



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FARMACOGENÉTICA APLICADA À INFERTILIDADE HUMANA

Trabalho submetido por
Inês Ferreira Ribeiro
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

fevereiro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FARMACOGENÉTICA APLICADA À INFERTILIDADE HUMANA

Trabalho submetido por
Inês Ferreira Ribeiro
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Ana Clara Ribeiro

fevereiro de 2019

Agradecimentos

Aos meus pais pelo apoio incondicional, pela compreensão e por todos os valores transmitidos. Agradeço todo o amor e carinho ao longo desta etapa, sem vocês não teria sido possível.

Aos meus avós, que apesar de nem todos terem acompanhado esta etapa, este seria um momento de muito orgulho. Obrigada por todo o amor. Cada um fez parte deste percurso de uma forma especial.

Ao Tiago por ter acompanhado toda esta etapa desde o primeiro dia, pela compreensão, apoio e amor em todos os momentos.

À minha madrinha por toda a amizade e carinho desde sempre.

À Sara Machado e ao Marco Correia por me acompanharem desde o início e por tornarem estes 5 anos inesquecíveis. Foram os melhores colegas e amigos que alguma vez podia ter pedido.

Aos meus amigos da faculdade, Marco, Mónica, Nuno, Rafael, Sara, Soraia e Telma por terem tornado esta etapa muito mais divertida e especial.

Aos meus colegas de curso por todos, à sua maneira, terem marcado estes 5 anos.

À minha orientadora, a Professora Doutora Ana Clara Ribeiro por todo o conhecimento, pela disponibilidade, pelas críticas construtivas e por ter contribuído para a elaboração desta monografia.

Resumo

A infertilidade é um problema de saúde pública que afeta cerca de 16% dos casais em todo o mundo. Associado a este problema de saúde surgem outros a nível psicológico como a ansiedade e a depressão.

O tratamento da infertilidade torna-se bastante complexo, uma vez que a fisiopatologia pode afetar desde o sistema endócrino até aos órgãos do sistema reprodutor. Uma vez que este problema de saúde afeta tanto homens como mulheres, os fatores que afetam cada um dos géneros são diferentes. Na mulher a infertilidade pode ter como etiologia os fatores hormonais, ovulatórios e anatómicos, onde se inclui a endometriose. Nos homens a infertilidade pode ser devida a alterações nos espermatozoides, fatores hormonais e anatómicos, como o varicocelo.

Os fatores anatómicos podem ser corrigidos através de procedimentos cirúrgicos enquanto que os fatores hormonais são, normalmente, tratados com terapêuticas farmacológicas. Dependendo da causa da infertilidade e do caso clínico podem ser considerados procedimentos de Reprodução Medicamente Assistida, como a FIV e ICSI. O passo inicial destas técnicas é a estimulação ovárica controlada.

A resposta à estimulação ovárica controlada pode variar dependendo do perfil genético de cada mulher. Desta forma, pretende-se que a farmacogenética preveja a resposta de cada mulher ao tratamento, minimizando os efeitos secundários e adaptando cada tratamento ao seu perfil genético.

Os polimorfismos nos genes que podem afetar a resposta à estimulação ovárica encontram-se no gene do Recetor da Hormona Folículo-estimulante, da Subunidade Beta da Hormona Luteinizante, do Recetor da Hormona Luteinizante / Gonadotrofina Coriónica Humana, na Proteína de Transporte das Hormonas Sexuais, no Recetor de Estrogénio, no Recetor da Hormona Antimulleriana e nos genes que codificam para as enzimas de metabolização de fase I, Citocromo P450, CYP19 e CYP2D6.

Palavras-chave: Farmacogenética; Infertilidade; Polimorfismo; Tratamento

Abstract

Infertility is a public health problem that affects about 16% of couples worldwide. Associated with this health problem arise psychological problems such as anxiety and depression.

The treatment of infertility becomes quite complex, since the pathophysiology can affect from the endocrine system to the organs of the reproductive system. Since this health problem affects both men and women, the factors that affect each gender are different. In women, infertility can be explained by hormonal, ovulatory and anatomical factors, including endometriosis. In men infertility may be due to changes in sperm, hormonal and anatomical factors, such as varicocele.

Anatomical factors can be corrected through surgical procedures whereas hormonal factors are usually treated with pharmacological therapies. Depending on the cause of infertility and the clinical case, Medically Assisted Reproduction procedures such as IVF and ICSI may be considered. The initial step of these techniques is controlled ovarian stimulation.

The response to controlled ovarian stimulation may vary depending on the genetic profile of each woman. In this way, pharmacogenetics is expected to predict each woman's response to treatment, minimizing side effects and adapting each treatment to her genetic profile.

Polymorphisms in genes that may affect the response to ovarian stimulation are in the Follicle-stimulating hormone receptor, in the Luteinizing Hormone beta-Subunit, in the Luteinizing Hormone/Choriogonadotropin Receptor, in Sex Hormone-Binding Globulin, in the Estrogen Receptors, Antimullerian Hormone Receptor and in the genes that code for the enzymes of phase I metabolism, Cytochrome P450, CYP19 and CYP2D6.

Keywords: Pharmacogenetics; Infertility; Polymorphism; Treatment

Índice Geral

Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas.....	9
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução.....	13
2. Definição de infertilidade.....	15
3. Epidemiologia da infertilidade	17
3.1. Epidemiologia da infertilidade em Portugal	20
3.2. Atividade em procriação medicamente assistida (PMA)	20
4. O ciclo menstrual	23
4.1. Fase menstrual	23
4.2. Fase folicular	23
4.3. Fase lútea	24
5. Fisiopatologia da infertilidade.....	27
5.1. Causas de infertilidade feminina	27
5.1.1. Fatores hormonais e ovulatórios.....	27
5.1.2. Fatores anatómicos	30
5.2. Causas de infertilidade masculina	35
5.2.1. Alterações dos espermatozoides	35
5.2.2. Fatores hormonais.....	37
5.2.3. Fatores anatómicos	37
6. Tratamento da infertilidade	39
6.1. Estimulação ovárica.....	42
6.1.1. A estimulação ovárica no grupo II da OMS	43
6.1.2. A estimulação ovárica na FIV	44
7. Farmacogenética.....	47
7.1. A farmacogenética na estimulação ovárica	48
7.1.1. Recetor da Hormona Folículo-estimulante.....	49
7.1.2. Subunidade beta da Hormona Luteinizante.....	53
7.1.3. Recetor da Hormona Luteinizante / Gonadotrofina coriónica humana	53
7.1.4. CYP19	54
7.1.5. Proteína de Transporte das Hormonas Sexuais	55
7.1.6. Recetor de Estrogénio.....	56
7.1.7. Recetor da Hormona Antimulleriana.....	57
7.1.8. CYP2D6.....	58
7.2. A farmacogenética no tratamento da infertilidade masculina	58
8. Conclusão	61

9. Bibliografia	65
-----------------------	----

Índice de Figuras

Figura 1. Prevalência global da infertilidade primária e secundária por idade da mulher, em 2010. Adaptado de: (Mascarenhas et al., 2012).....	18
Figura 2. Prevalência da infertilidade primária em mulheres que pretendiam ter um filho, em 2010 (Mascarenhas et al., 2012)	19
Figura 3. Prevalência da infertilidade secundária em mulheres que pretendiam ter o segundo filho, em 2010 (Mascarenhas et al., 2012)	19
Figura 4. Modificações anatómicas e fisiológicas do ciclo menstrual. Adaptado de: (Jones & Lopez, 2006b).....	25
Figura 5. Vários tipos de malformações uterinas: (a) útero didelfo com duplicação da vagina; (b) útero didelfo sem duplicação da vagina; (c) útero bicórnio; (d) útero bicórnio com o ramo esquerdo curto; (e) útero septado; (f) útero unicórnio (Jones & Lopez, 2006a)	31
Figura 6. Localização e classificação dos miomas uterinos. Adaptado de: (Harris-Glocker & McLaren, 2013)	33
Figura 7. Focos de endometriose no útero e ovários. Adaptado de: (Harris-Glocker & McLaren, 2013)	35
Figura 8. Malformação morfológica dos espermatozoides: (a) morfologia normal; (b) malformação da cabeça do espermatozoide; (c) globozoospermia (a cabeça do espermatozoide não têm acrossoma, fazendo com que este adquira uma forma arredondada) (Hirsh, 2003).....	36
Figura 9. Fluxograma de tratamento E (NICE) - Distúrbios tubários e uterinos. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)	39
Figura 10. Fluxograma de tratamento F (NICE) - Distúrbios ovulatórios. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)	40
Figura 11. Fluxograma de tratamento G (NICE) - Fator masculino. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)	41
Figura 12. Fluxograma de tratamento H (NICE) - Infertilidade inexplicada. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)	42
Figura 13. Processo de Fertilização in vitro. Adaptado de: (Farquhar et al., 2019).....	45
Figura 14. Organização estrutural do gene do recetor de FSH. Adaptado de: (Simoni et al., 1997)	50
Figura 15. Recetor da Hormona Folículo-estimulante e os seus polimorfismos. Adaptado de: (Wunsch et al., 2007)	51

Índice de Tabelas

Tabela 1. Definições de infertilidade publicadas por diversas organizações. Adaptado de: (Gurunath, Pandian, Anderson, & Bhattacharya, 2011)	15
Tabela 2. Classificações da SOP de acordo com diversas organizações. Adaptado de: (Luciano et al., 2013).....	29
Tabela 3. Percentagem de infertilidade por obstrução tubária após episódios de DIP (Weström, 1980).....	32
Tabela 4. Valores mínimos de referência para o sémen de homens férteis. Adaptado de: (Cooper et al., 2010).....	36

Lista de Abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico
AMHR – Recetor da Hormona Antimulleriana
ASRM – *American Society for Reproductive Medicine*
DIP – Doença Inflamatória Pélvica
DST – Doenças Sexualmente Transmissíveis
ESHRE – *European Society of Human Reproduction and Embryology*
FIV – Fertilização *in vitro*
FSH – Hormona Folículo Estimulante
FSHr – Hormona Folículo Estimulante Recombinante
FSHR – Recetor da Hormona Folículo Estimulante
FSHu – Hormona Folículo Estimulante Urinária
GnRH – Hormona Libertadora de Gonadotrofina
HAM – Hormona Antimulleriana
hCG – Gonadotrofina Coriónica Humana
ICMART – Comissão Internacional para a Monitorização da Reprodução Medicamente Assistida, do inglês *International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology*
ICSI – Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides
IMC – Índice de Massa Corporal
LH – Hormona Luteinizante
LHB – Subunidade Beta da Hormona Luteinizante
NICE – *National Institute for Health and Care Excellence*
OMS – Organização Mundial de Saúde
PMA – Procriação Medicamente Assistida
SHEO – Síndrome de Hiperestimulação Ovária
SNPs – *Single-nucleotide polymorphisms*
SNS – Serviço Nacional de Saúde
SOP – Síndrome do Ovário Poliquístico
TEC – Transferência de Embriões Criopreservados
UI – Unidades Internacionais

1. Introdução

A saúde reprodutiva tem a seguinte definição: “Um estado de bem-estar físico, mental e social, e não apenas a ausência de doença ou enfermidade, em todos os aspetos relacionados com o sistema reprodutivo e suas funções e processos”. Este conceito subentende que cada pessoa tenha controlo sob a sua vida sexual, inclusive de quando e com que frequência tem filhos, que a mesma seja satisfatória e segura (Direcção Geral de Saúde, 2008).

A infertilidade é um obstáculo para se atingir a saúde reprodutiva, tendo sido reconhecida como um problema de saúde pública mundial pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e é definida como a incapacidade de engravidar após pelo menos 1 ano de relações sexuais desprotegidas (Boivin, Bunting, Collins, & Nygren, 2007).

A infertilidade é reconhecida como uma fase de crise na vida do casal e tem vários problemas associados: socioculturais, emocionais, físicos e financeiros. A associação da imagem da mulher à maternidade vem desde a antiguidade e em algumas comunidades a incapacidade de engravidar é atribuída somente à mulher, que se sente culpabilizada. Assim, ter filhos tem um impacto significativo na saúde mental dos casais e, em alguns países, ainda é visto como necessário para que a mulher atinja um determinado estatuto dentro da família e da comunidade. Como a infertilidade incapacita a mulher de alcançar o papel social desejado, esta está frequentemente associada a um sofrimento psicológico com sintomas como a frustração, depressão, ansiedade e sentimento de culpa (Hasanpoor-azghdy, Simbar, & Vedadhir, 2014; Schmidt, 2006).

Neste sentido e com vista a ultrapassar este problema de saúde, nas últimas décadas tem-se observado mudanças significativas na área da saúde reprodutiva, tendo evoluído do estudo de métodos contraceptivos e métodos de controlo da natalidade para o controlo da infertilidade, nomeadamente, através de técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA) (Padeiro, 2014).

Os desenvolvimentos das técnicas de PMA foram essenciais para ultrapassar muitas causas de infertilidade com sucesso. O Prof. Robert G. Edward recebeu o Prémio Nobel da Medicina em 2010 pelo desenvolvimento da Fertilização *in vitro* (FIV) e pelo nascimento do primeiro bebé através desta técnica em 1978. Este foi um passo muito importante para muitos casais inférteis e hoje, estima-se que 2% a 3% de todos os

nascimentos em países desenvolvidos resultam de procedimentos de FIV (Gearhart & Coutifaris, 2011).

Independentemente da melhoria da taxa de gravidez, a taxa de sucesso na FIV encontra-se perto de 30% por ciclo (Nick S Macklon et al., 2006). Assim, mantém-se a necessidade constante da evolução destas técnicas, do desenvolvimento de protocolos de tratamento mais eficazes e menos prejudiciais. O resultado destes procedimentos depende muito da eficácia da estimulação ovárica controlada, um procedimento de rotina que precede a PMA, em que as gonadotrofinas exógenas são utilizadas para induzir o crescimento e desenvolvimento de múltiplos folículos ováricos (S. Altmäe, Hovatta, Stavreus-Evers, & Salumets, 2011).

A variabilidade interindividual dos resultados da estimulação ovárica controlada podem levar ao cancelamento do ciclo de tratamento, por não se atingir o número de oócitos necessários ou trazer complicações para a saúde da mulher como a Síndrome de Hiperestimulação Ovárica (SHEO) ou uma gravidez múltipla. Assim, surge a farmacogenética no tratamento da infertilidade, com o objetivo de prever a resposta de cada mulher ao tratamento, minimizando os efeitos secundários e adaptando cada tratamento ao seu perfil genético (Roque et al., 2019).

O objetivo desta revisão de literatura é conhecer o estado da arte da área da farmacogenética aplicada à terapêutica da infertilidade. Para tal, é necessário abordar a definição de infertilidade, a sua epidemiologia, fisiopatologia e tratamento.

Para a realização desta monografia utilizaram-se como métodos a pesquisa nas seguintes bases de dados: Pubmed, PharmGKB, Google Scholar e B-on – Biblioteca do conhecimento *online*. Recorreu-se às seguintes palavras-chave: “*infertility*” concomitantemente com “*pharmacogenetics*”, “*pharmacogenomics*”, “*epidemiology*” “*treatment*”, “*management*”, “*genetics*”, “*IVF*” e “*ovulation*”.

A escolha do tema desta monografia, assim como toda a motivação para a realizar, deveu-se ao facto dos meus pais terem sofrido de infertilidade inexplicada durante quatro anos, tendo passado por quatro abortos espontâneos, sendo eu filha única e tendo nascido da quinta gravidez da minha mãe. Assim, considereei que seria importante estudar este tema e perceber de que forma a área da infertilidade está a evoluir.

2. Definição de infertilidade

A OMS em conjunto com a Comissão Internacional para a Monitorização da Reprodução Medicamente Assistida (ICMART) elaboraram, em 2009, um glossário que define a infertilidade da seguinte forma: “uma doença do sistema reprodutivo definida pela incapacidade de ter uma gravidez após 12 meses ou mais de relações sexuais sem métodos contraceptivos” (Zegers-Hochschild et al., 2009).

A Tabela 1, apresenta diversas definições de infertilidade demonstrando a inexistência de uma definição padrão.

Tabela 1. Definições de infertilidade publicadas por diversas organizações. Adaptado de: (Gurunath, Pandian, Anderson, & Bhattacharya, 2011)

Organização	Definição
The National Institute for Health and Care Excellence, 2004	A infertilidade deve ser definida como a falha em conceber após relações sexuais regulares e desprotegidas durante 2 anos, na ausência de patologia reprodutiva conhecida
American Society for Reproductive Medicine, 2008	A infertilidade é uma doença definida pela falha em conseguir uma gravidez bem sucedida após 12 meses ou mais de relações sexuais desprotegidas e regulares
International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology and World Health Organization, 2009	Infertilidade (definição clínica): uma doença do sistema reprodutivo definida pela incapacidade de ter uma gravidez após 12 meses ou mais de relações sexuais sem métodos contraceptivos
Definição Demográfica – Larsen, 2005	Incapacidade de uma mulher sexualmente ativa e que não utiliza métodos contraceptivos, de ter um parto de nado-vivo

As definições existentes de infertilidade carecem de uniformidade, dificultando os estudos de prevalência e as avaliações clínicas. Portanto, há necessidade de uma definição padrão de infertilidade (Gurunath et al., 2011).

Recorrentemente, a infertilidade é classificada como primária ou secundária. A infertilidade primária ocorre em casais a quem nunca foi diagnosticada uma gravidez clínica e que cumprem os critérios para serem classificados como tendo infertilidade. A infertilidade secundária define-se como um casal incapaz de estabelecer uma gravidez clínica, mas a quem já foi diagnosticada uma gravidez clínica anteriormente (Zegers-Hochschild et al., 2017).

3. Epidemiologia da infertilidade

A prevalência global da infertilidade é estimada em 9% para mulheres com idades compreendidas entre os 20 e os 44 anos. Considerando-se a infertilidade como a incapacidade de engravidar ou de levar uma gravidez até ao fim num período de 12 meses consecutivos. Assim, mundialmente, 72.4 milhões de mulheres que se encontram casadas ou em relacionamentos consensuais são inférteis (Boivin et al., 2007; ESHRE, 2018).

De acordo com Boivin *et al.* (2007), a prevalência da infertilidade varia entre os 3,5% e os 16,7%, sendo entre 3,5-16,7% em países desenvolvidos e entre 6,9-9,3% em países em desenvolvimento. Esta diferença ocorre devido ao mecanismo responsável pela infertilidade, que pode variar de país para país: o número de casos de infertilidade causados por infeções e doenças sexualmente transmissíveis (DST) é superior nos países em desenvolvimento, enquanto que nos países desenvolvidos há um aumento da infertilidade relacionada com a idade da mulher, contrariamente aos países em desenvolvimento (Boivin et al., 2007). Um caso particular que demonstra a presença de diferentes mecanismos responsáveis pela infertilidade nos diversos países é o caso da China em que, devido à política do filho único, se estima que a infertilidade secundária é baixa e não foi medida no estudo de Che e Cleland (Boivin et al., 2007; Che & Cleland, 2002).

Na revisão bibliográfica de Boivin *et al.* (2007), o tempo de exposição das mulheres à possibilidade de engravidar foi de 12 meses. No entanto, Mascarenhas *et al.* (2012), afirma que este período de 12 meses é curto, podendo levar a erros na classificação da infertilidade e, consequentemente, erros na medição da prevalência da mesma. Assim, no estudo de Mascarenhas *et al.* (2012) foi definido um tempo de exposição de 5 anos para avaliar a prevalência da infertilidade. Com isto, aumenta a probabilidade de o tempo de exposição acomodar o período necessário para engravidar e dar à luz, englobar possíveis separações temporárias entre os casais, períodos de abstinência sexual pós-parto e amenorreia lactacional.

Em 2010, 1,9% (24.688.640) das mulheres, entre os 20 e os 44 anos, sofria de infertilidade primária e 10,5% (106.469.958) das mulheres sofriam de infertilidade secundária. A prevalência da infertilidade primária é superior entre as mulheres mais jovens, com idades compreendidas entre os 20 e os 24 anos. Contrariamente, a

prevalência da infertilidade secundária aumenta abruptamente com a idade, desde 2,6% em mulheres com 20-24 anos até 27,1% em mulheres com 40-44 anos (Figura 1) (Mascarenhas, Flaxman, Boerma, Vanderpoel, & Stevens, 2012).

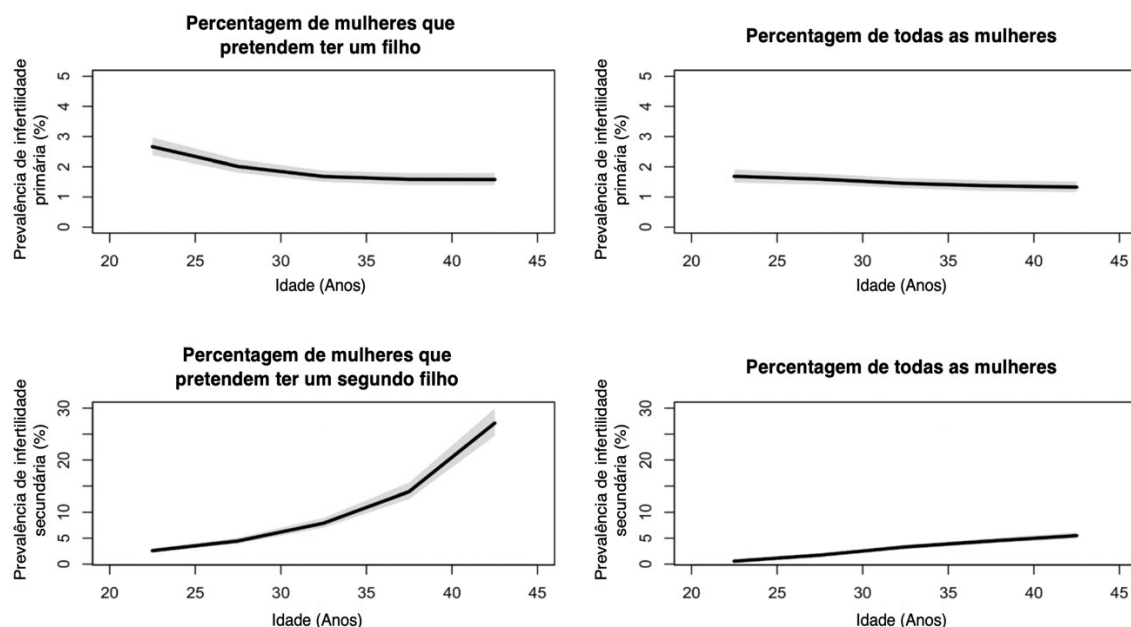


Figura 1. Prevalência global da infertilidade primária e secundária por idade da mulher, em 2010.
Adaptado de: (Mascarenhas et al., 2012)

A prevalência da infertilidade primária, em 2010, variou em função da região, atingindo um mínimo de 1,5% na América Latina/Caraíbas e um máximo de 2,6% no Norte de África/Médio Oriente. Em relação à prevalência secundária, esta variou entre 7,2% no Norte de África/Médio Oriente e 18,0% na Europa Central/Leste e Ásia Central (Figura 2 e Figura 3) (Mascarenhas et al., 2012).

Em 2010, 48,5 milhões de casais (número total de mulheres, independentemente da vontade de ter filhos e da idade) não conseguiram ter filhos, destes 19,2 milhões não conseguiram ter o primeiro filho, e 29,3 milhões não conseguiram o segundo filho. O número de casais com infertilidade aumentou desde 1990, onde 42,0 milhões de casais sofreram de infertilidade (Mascarenhas et al., 2012).

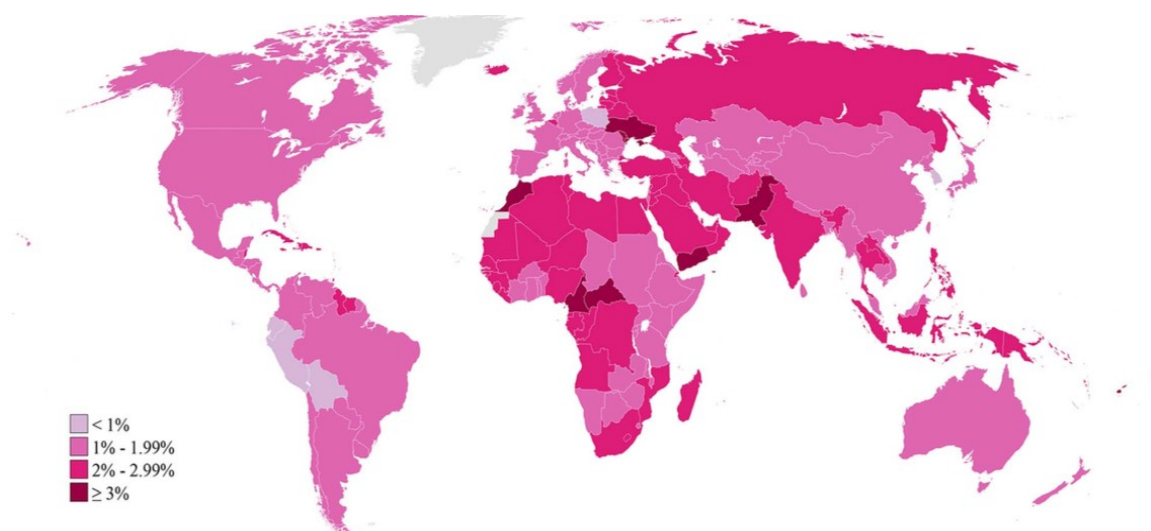


Figura 2. Prevalência da infertilidade primária em mulheres que pretendiam ter um filho, em 2010 (Mascarenhas et al., 2012)

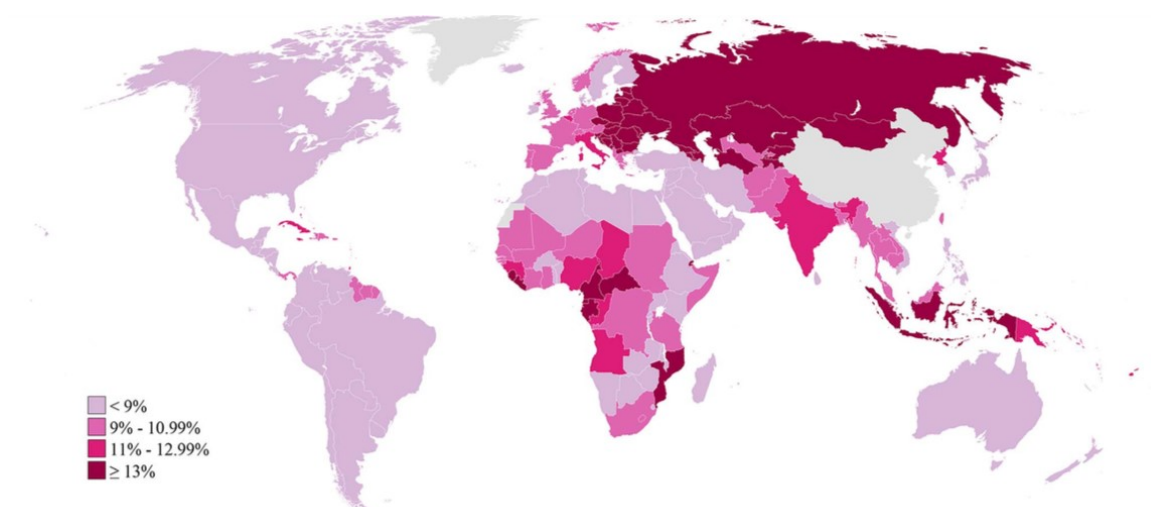


Figura 3. Prevalência da infertilidade secundária em mulheres que pretendiam ter o segundo filho, em 2010 (Mascarenhas et al., 2012)

Relativamente aos fatores causadores da infertilidade, 20-30% dos casos são explicados através de causas fisiológicas no homem, 20-35% através de causas fisiológicas na mulher, e 25-40% das causas são devidas a problemas em ambos os parceiros. Em 10-20% dos casos a infertilidade é inexplicada (ESHRE, 2018).

A infertilidade também pode estar associada ao estilo de vida, como o tabaco, o peso e o stress (ESHRE, 2018).

3.1. Epidemiologia da infertilidade em Portugal

A epidemiologia da infertilidade em Portugal aparece caracterizada no estudo Afrodite - Caracterização da Infertilidade em Portugal, realizado em 2009.

O estudo Afrodite apresenta a prevalência da infertilidade ao longo da vida em mulheres com idade entre os 25 anos e os 69 anos e a prevalência da infertilidade em idade reprodutora (25-44 anos) (Carvalho & Santos, 2009).

Neste estudo foram aplicados três critérios para definir a infertilidade: tempo até à conceção superior a 12 meses ou ter realizado uma consulta médica ou ter feito algum tratamento relacionado com distúrbios de infertilidade. Assim, estima-se que a prevalência de infertilidade ao longo da vida seja 8,9% (266.088 de 2.989.755 mulheres com idade entre os 25 e os 69). Na idade reprodutora, entre os 25 e os 44 anos, estima-se que 116.630 (7,9%) mulheres já tiveram dificuldade em engravidar (Carvalho & Santos, 2009).

Relativamente aos fatores causadores de infertilidade ao longo da vida, 48,1% dos casos são devidos a problemas hormonais, 40,7% devidos a alterações da ovulação, 16,7% por obstrução das trompas, 16,7% por alteração dos espermatozoides, 11,1% devido à síndrome do ovário poliquístico (SOP), 11,1% por doenças do útero e 5,6% devido a endometriose. Em 31% dos casos a mulher desconhece a etiologia da infertilidade (Carvalho & Santos, 2009).

3.2. Atividade em procriação medicamente assistida (PMA)

De acordo com Boivin *et al.* (2007), a percentagem de casais inférteis que procura ajuda médica varia entre 42-76,3% nos países desenvolvidos e entre 27-74,1% nos países em desenvolvimento.

A *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) estima que a necessidade global de tratamentos de PMA seja de 1.500 ciclos/milhão de população (ESHRE, 2018).

Em relação aos ciclos de tratamento, em 2014, foi reportada a realização de 776.556 ciclos na Europa (mais 90.285, 13,1%, do que em 2013). A técnica de tratamento mais comum é a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI),

seguida da transferência de embriões criopreservados (TEC) e da fertilização *in vitro* (FIV) (De Geyter et al., 2018).

A percentagem de nascimentos em 2014 foi 22,3% e 20,1% por aspiração para FIV e ICSI e 19,3% por transferência para TEC. No total, em 2014, nasceram 170.163 bebés através de tratamentos de infertilidade (De Geyter et al., 2018).

Em Portugal, o relatório de atividade desenvolvida pelos centros de PMA em 2015 reporta os ciclos de tratamentos iniciados nesse ano a nível nacional. Em Portugal existiam 27 centros que executavam tratamentos de infertilidade através de técnicas de PMA. Durante este ano foram registados 11.619 ciclos de PMA e houve um total de 2.504 crianças nascidas através destas técnicas. Destes, 1.683 nasceram após a realização de ciclos de FIV e ICSI e 526 após TEC (Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida, 2017).

4. O ciclo menstrual

O ciclo menstrual é o conjunto de modificações anatômicas e fisiológicas que ocorrem na mulher que tem como objetivo a fecundação e que ocorre de forma cíclica. Cada mulher pode apresentar uma duração diferente do ciclo menstrual, no entanto, o mais comum é que este tenha uma duração entre 24 e 38 dias (Fraser, Critchley, Broder, & Munro, 2011). Cada ciclo menstrual pode ser dividido em três fases principais: a fase menstrual, a fase folicular e a fase lútea.

4.1. Fase menstrual

O ciclo menstrual inicia-se no dia em que começa a menstruação (fase menstrual), durante esta fase parte do endométrio degenera e é eliminado sob a forma do fluxo menstrual, isto ocorre quando existe uma diminuição dos níveis sanguíneos de estradiol e progesterona. Esta fase costuma durar cerca de 5 a 6 dias (Fehring, Schneider, & Raviele, 2006).

Durante a fase menstrual, no 1º dia do ciclo os ovários contêm apenas pequenos folículos terciários, com menos de 5 mm de diâmetro. No 3º dia, os níveis sanguíneos das gonadotrofinas, a Hormona Folículo Estimulante (FSH) e a Hormona Luteinizante (LH), aumentam ligeiramente, começando a aumentar também o tamanho de alguns folículos. À medida que os folículos aumentam de tamanho começam a secretar estradiol. A libertação de FSH e LH é estimulada pela hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH) (Berga & Naftolin, 2012; Jones & Lopez, 2006b).

4.2. Fase folicular

Na fase folicular é quando ocorrer o crescimento dos folículos terciários presentes nos ovários, devido à ação da FSH. Com o aumento dos folículos, a secreção de estradiol também aumenta (N S Macklon & Fauser, 1998). O aumento do estrogénio faz com que o endométrio aumente de espessura, no ciclo uterino estas alterações referem-se à fase proliferativa (Raine-fenning, Campbell, Clewes, Kendall, & Johnson, 2004).

Quando se atinge o pico de estradiol no sangue, ocorre o aumento da LH em circulação que causa a ovulação de um dos folículos. Os níveis de progesterona e FSH permanecem baixos na fase folicular até pouco antes da ovulação. Na altura da ovulação, a FSH acompanha o pico de LH, e os níveis de progesterona aumentam ligeiramente. Este aumento da progesterona leva a um mecanismo de *feedback* positivo sobre o estradiol que consequentemente leva a hipófise a aumentar a LH (Speroff, Glass, & Kase, 1999).

4.3. Fase lútea

Após a ovulação, forma-se o corpo lúteo a partir da parede do folículo que ovulou. O corpo lúteo é responsável pela secreção de estradiol e progesterona, aumentando os seus níveis sanguíneos na fase lútea. A combinação dos níveis elevados de estradiol e progesterona durante esta fase garante que o útero continua a aumentar de espessura. Cerca de 4 dias antes do início da menstruação, devido aos baixos níveis de LH o corpo lúteo começa a degenerar e o nível de progesterona diminui. Quando os níveis sanguíneos destas hormonas diminuem, o endométrio começa a degeneração, resultando no início da menstruação (Jones & Lopez, 2006b; Speroff et al., 1999).

A Figura 4 é uma representação das modificações anatómicas e fisiológicas que ocorrem no ciclo menstrual das várias fases que foram descritas ao longo deste capítulo.

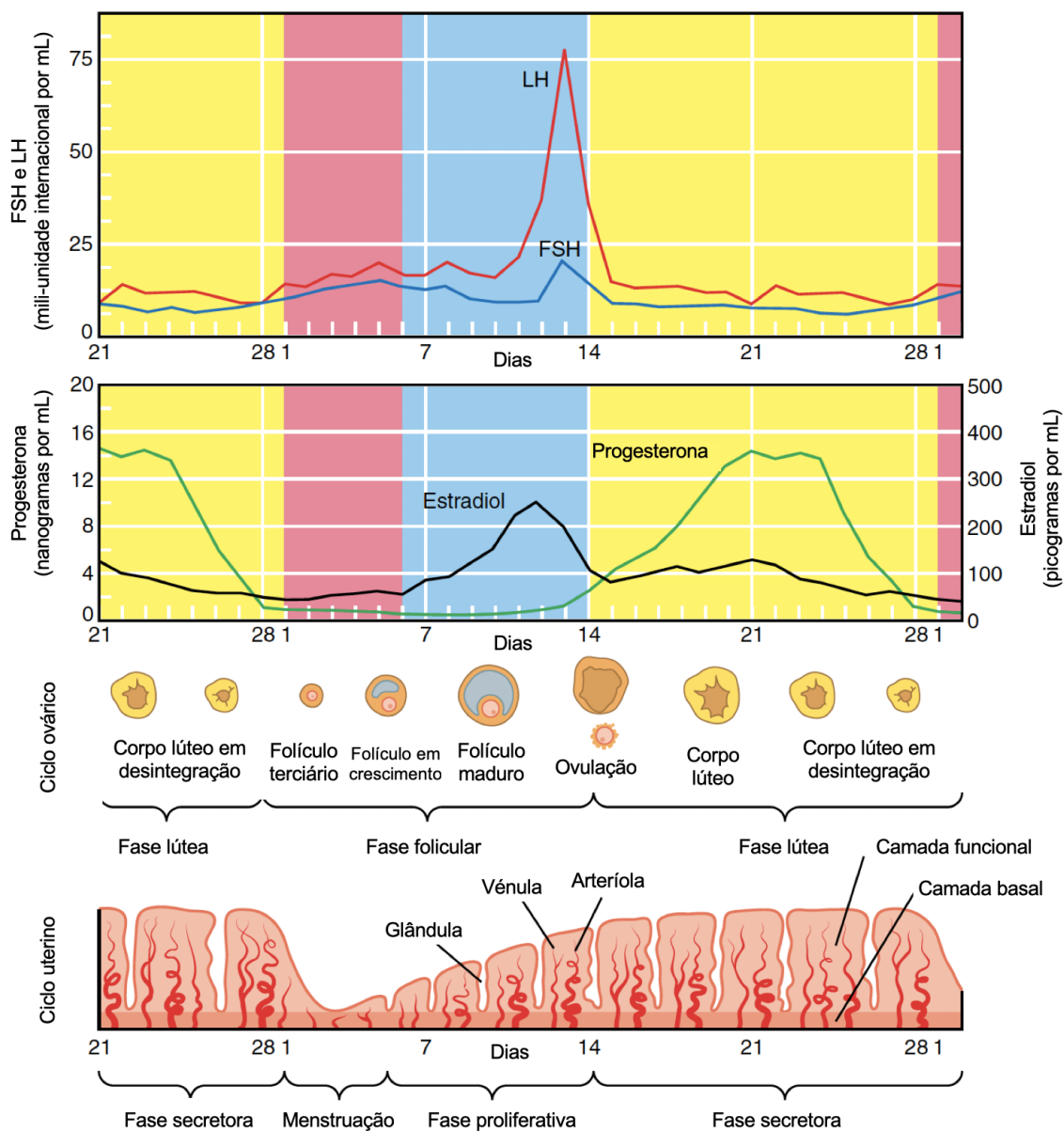


Figura 4. Modificações anatômicas e fisiológicas do ciclo menstrual. Adaptado de: (Jones & Lopez, 2006b)

5. Fisiopatologia da infertilidade

A infertilidade é uma doença vivida pelo casal e, conseqüentemente, os seus fatores causadores podem estar relacionados com fatores fisiológicos masculinos, fatores fisiológicos femininos ou com problemas em ambos os parceiros.

5.1. Causas de infertilidade feminina

5.1.1. Fatores hormonais e ovulatórios

As alterações ovulatórias podem manifestar-se como oligoovulação (ovulação pouco frequente), anovulação (ausência de ovulação) e defeitos da fase lútea (função inadequada do corpo lúteo). E resultam em sinais ou sintomas, como a amenorreia (ausência de menstruação), oligomenorreia (ciclos menstruais irregulares), galactorreia (secreção de leite pela mama), acne, obesidade, perda excessiva de peso, hirsutismo (crescimento excessivo de pelos no rosto e no corpo da mulher) (Associação para o Planeamento da Família, 2012).

A OMS classifica os distúrbios da ovulação em três grupos (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013):

- Grupo I - Distúrbios da ovulação provocados por doenças hipotálamo-hipofisárias. Esta categoria inclui condições como amenorreia hipotalâmica e hipogonadismo hipogonadotrófico. A amenorreia é caracterizada por baixas concentrações de gonadotrofinas e deficiência de estrogénio;
- Grupo II - Distúrbios da ovulação definidos como disfunções do eixo hipotálamo-hipófise-ovário. Esta categoria inclui condições tais como síndrome do ovário poliquístico (SOP) e amenorreia hiperprolactinémia;
- Grupo III - Distúrbios da ovulação causados por insuficiência ovárica.

Este sistema de classificação é utilizado para definir e tratar os distúrbios ovulatórios de acordo com a disfunção endócrina subjacente. Aos distúrbios classificados como Grupo I e Grupo II são aplicados tratamentos farmacológicos, modificações no estilo de vida e/ou intervenções cirúrgicas. Os distúrbios classificados

como Grupo III necessitam de proceder à doação de oócitos seguida de FIV (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013).

As disfunções do hipotálamo da mulher provocam uma alteração na libertação da GnRH e, consequentemente, uma alteração na produção da LH e FSH, a partir da hipófise, levando à anovulação e à amenorreia hipotalâmica. O *stress*, o exercício físico excessivo ou baixa percentagem de massa gorda corporal também podem causar amenorreia hipotalâmica, sendo que esta é frequentemente reversível quando mediada por fatores exógenos (Healy, Trounson, & Andersen, 1994; Luciano, Lanzone, & Goverde, 2013).

No Grupo II a grande maioria das mulheres sofre de síndrome do ovário poliquístico, sendo esta a disfunção endócrina mais comum das mulheres em idade reprodutiva (Azziz et al., 2004; Luciano et al., 2013).

A ESHRE e a *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), concluíram em 2003, que a SOP é uma síndrome de disfunção ovulatória, sendo os seus sinais primários o hiperandrogenismo e a morfologia dos ovários poliquísticos. As manifestações clínicas da SOP incluem as irregularidades menstruais, excesso de androgénios e obesidade. A resistência à insulina e níveis séricos elevados de LH também são características comuns na SOP (B. C. J. M. Fauser, 2004; Rosenfield & Ehrmann, 2016).

O diagnóstico da SOP é feito com base na presença de uma combinação de sinais. A Tabela 2 apresenta a classificações da SOP de acordo com diversas organizações.

Para além da SOP, a OMS inclui ainda no grupo II a hiperprolactinémia. A prolactina é uma hormona produzida na hipófise cuja função principal é a estimulação e continuação da lactação após o parto. A concentração elevada de prolactina leva a um desequilíbrio na secreção de FSH e LH e, consequentemente, à amenorreia. Este desequilíbrio pode ocorrer devido a à presença de um tumor benigno na hipófise (Pałubska et al., 2017).

Incluídas no Grupo III da OMS, estão as mulheres com insuficiência ovárica primária ou, em casos mais ligeiros, com uma reserva ovárica diminuída. A insuficiência ovárica primária é definida como uma condição caracterizada por uma amenorreia com uma duração de pelo menos 4 meses, juntamente com níveis de FSH consistentemente superiores a 40 UI/L e diminuição das concentrações de estradiol (< 20 pg/mL) antes dos 40 anos (Luciano et al., 2013).

Tabela 2. Classificações da SOP de acordo com diversas organizações. Adaptado de: (Luciano et al., 2013)

Organização	Anovulação	Hiperandrogenismo	Observação de quistos através de ultrassom	Definição
National Institutes of Health	Sim	Sim	Não aplicável	Tem de estar presente a anovulação e hiperandrogenismo. A observação de quistos na ultrassonografia não faz parte da definição
ESHRE/ASRM	Sim	Sim	Sim	Presença de pelo menos 2 critérios
Androgen Excess and PCOS Society	Sim	Sim	Sim	Presença de hiperandrogenismo, anovulação e/ou observação de quistos na ultrassonografia

Embora a insuficiência ovárica possa ter diversas causas, todas elas levam à depleção precoce dos folículos ováricos funcionais. Como resultado, o ciclo menstrual é perdido, quer de forma abrupta quer de forma gradual (Luciano et al., 2013).

Adicionalmente, a fertilidade da mulher diminui progressivamente com a idade. O número de folículos presentes no ovário humano, a reserva ovárica, é estabelecido antes do nascimento, na fase embrionária, encontrando-se cerca de 1 milhão de folículos aquando do nascimento, valor esse que diminui com o aumento da idade (Faddy, Gosden, Gougeon, Richardson, & Nelson, 1992; Wallace & Kelsey, 2010). Ou seja, o número de folículos presentes no ovário já se encontra estabelecido ainda antes do nascimento, assim, com o avançar da idade o número de folículos disponível é cada vez menor.

De acordo com Faddy *et al.* (1992), o número de folículos sofre uma diminuição mais abrupta a partir dos 37,5 anos de idade, em que se encontram cerca de 25.000 folículos presentes nos ovários, e atinge os 1.000 folículos aos 51 anos.

Wallace *et al.* (2010), estima que as mulheres aos 30 anos de idade tenham 12% dos folículos ováricos que tinham à nascença e aos 40 anos esta percentagem desça para apenas 3%.

Associado à diminuição do número de folículos com o aumento da idade, ocorre também um aumento gradual do nível circulante de FSH e uma diminuição do nível da hormona antimulleriana (HAM) (American Society for Reproductive Medicine, 2014).

5.1.2. Fatores anatômicos

Os fatores anatômicos são outra causa associada à infertilidade e nesta categoria encontram-se as alterações na forma e funcionamento dos órgãos do aparelho reprodutivo, de origem congênita ou devido a infecções (Associação para o Planejamento da Família, 2012).

5.1.2.1. Malformações anatômicas congénitas

As malformações anatômicas congénitas podem ir desde a inexistência de órgãos sexuais até diferentes graus de dismorfia da vulva, vagina, útero, ovários e/ou trompas de Falópio (Associação para o Planejamento da Família, 2012).

As malformações uterinas congénitas estão associadas à infertilidade, ao aborto espontâneo e ao parto prematuro. A Figura 5 ilustra vários tipos de malformação uterinas, sendo que a mais comum é o útero septado (Abrao, Muzii, & Marana, 2013).

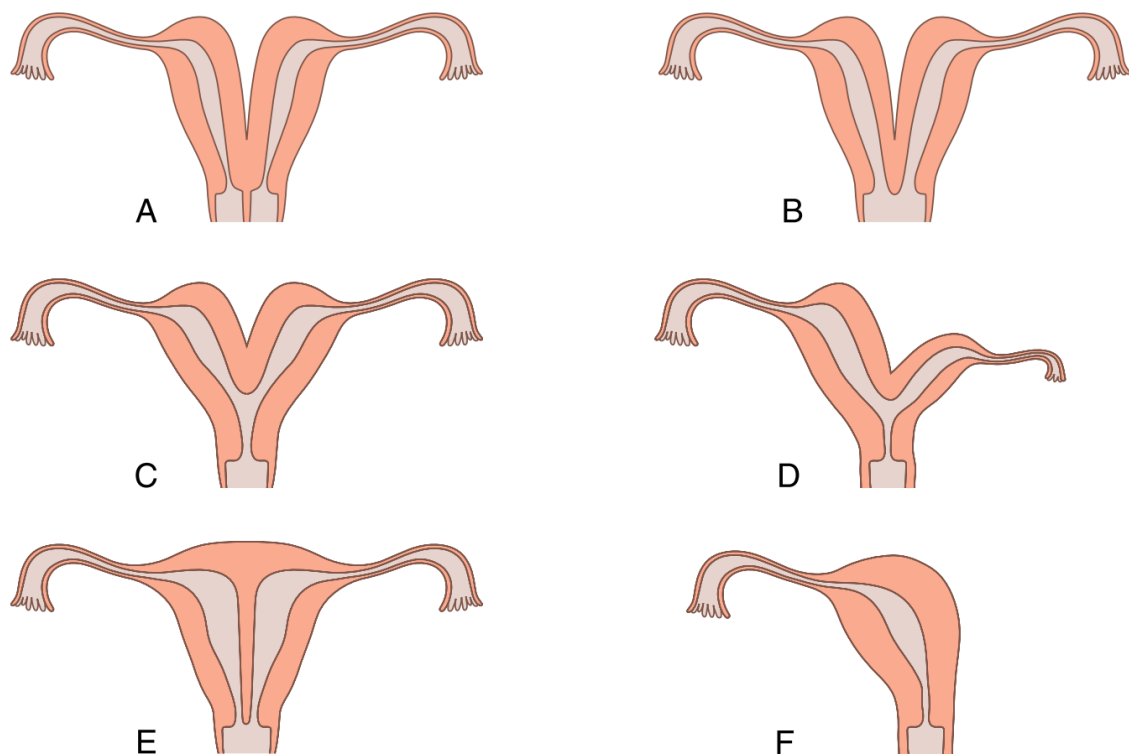


Figura 5. Vários tipos de malformações uterinas: (a) útero didelfo com duplicação da vagina; (b) útero didelfo sem duplicação da vagina; (c) útero bicórnio; (d) útero bicórnio com o ramo esquerdo curto; (e) útero septado; (f) útero unicórnio (Jones & Lopez, 2006a)

5.1.2.2. Obstrução tubar

A obstrução das trompas de Falópio pode impossibilitar a captura do oócito após a ovulação e a sua deslocação até ao útero. A fertilização do oócito pelo espermatozoide ocorre aquando do seu transporte pela trompa de Falópio, sendo de seguida o embrião movido para a cavidade uterina. Caso este processo não ocorra devido a obstrução tubar pode desenvolver-se uma gravidez ectópica (Harris-Glocker & McLaren, 2013).

A infertilidade por fator tubário pode dever-se à utilização de dispositivos e sistemas intrauterinos, à endometriose, a complicações após cirurgias abdominais, mas principalmente, devido a doença inflamatória pélvica (DIP) e salpingite, infeções provocadas por microrganismos sexualmente transmissíveis, como a *Chlamydia trachomatis* e a *Neisseria gonorrhoeae*, (Briceag et al., 2015; Healy et al., 1994; Rantsi et al., 2018).

A doença inflamatória pélvica (DIP) é uma inflamação resultante de uma infeção do sistema reprodutor feminino. A inflamação evolui da vagina ou colo do útero para o

sistema reprodutor superior (útero, trompas de Falópio e ovários) (Brunham, Gottlieb, & Paavonen, 2015).

A DIP provoca inflamação e alterações tubárias a longo prazo, como a obstrução tubária e a inflamação aguda das trompas (salpingite) seguida da sua dilatação (hidrosalpinge) (Brunham et al., 2015).

A probabilidade de infertilidade devido à obstrução tubar aumenta com o número de episódios de DIP: 12% de risco após um episódio, 23% após dois episódios e 54% após três ou mais infecções (Tabela 3) (Weström, 1980).

Tabela 3. Percentagem de infertilidade por obstrução tubária após episódios de DIP (Weström, 1980)

Nº de infecções	% de casos de infertilidade		
	15-24 anos	25-34 anos	Total
1	9,4	19,2	11,4
2	20,9	31,0	23,1
3+	51,6	60,0	54,3

A hidrosalpinge não só dificulta a migração normal dos espermatozoides, como também cria um ambiente hostil para a implantação dos embriões devido ao conteúdo inflamatório na cavidade endometrial (Harris-Glocker & McLaren, 2013).

5.1.2.3. Patologias uterinas

Os miomas uterinos afetam entre 20 a 40% das mulheres em idade reprodutiva, sendo os tumores benignos mais comuns nesta população (Wallach & Vlahos, 2004).

Os miomas são lesões benignas derivadas do músculo liso do útero. Estes são classificados conforme a sua localização no útero: subserosos, intramurais ou submucosos. Os miomas subserosos desenvolvem-se na parede exterior do útero, os intramurais na parede interior do útero e os submucosos localizam-se no endométrio (Figura 6) (Duhan & Sirohiwal, 2010).

O crescimento dos miomas está associado à exposição ao estrogénio. Assim, o crescimento é superior em períodos que se encontre mais estrogénio em circulação, como durante a gravidez e nos anos pré-menopausa (Duhan & Sirohiwal, 2010).

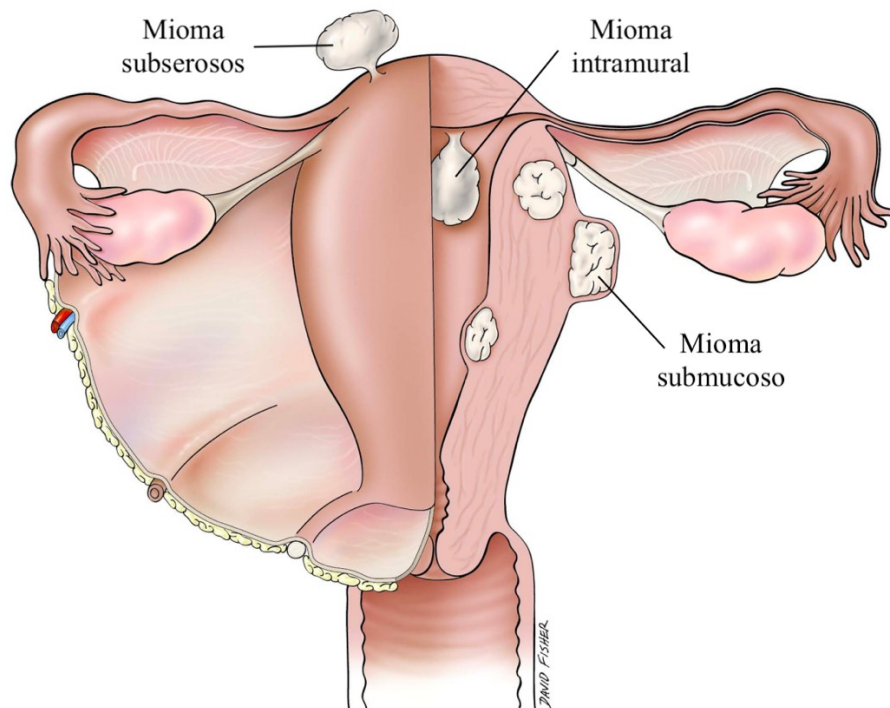


Figura 6. Localização e classificação dos miomas uterinos. Adaptado de: (Harris-Glocker & McLaren, 2013)

Os mecanismos pelos quais os miomas podem afetar a fertilidade são (The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine & The Society of Reproductive Surgeons, 2008):

- a) Deslocação do colo do útero;
- b) Deformação da cavidade uterina;
- c) Obstrução das trompas de Falópio;
- d) Contrações uterinas desreguladas;
- e) Deformação ou rutura do endométrio;
- f) Alteração do fluxo sanguíneo do endométrio;
- g) Inflamação do endométrio.

Os miomas uterinos são maioritariamente assintomáticos. No entanto, quando os sintomas estão presentes, estes incluem: sangramento uterino anormal, dismenorreia e aumento do perímetro abdominal (The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine & The Society of Reproductive Surgeons, 2008).

As sinéquias intrauterinas são outra patologia uterina que pode afetar o útero e, consequentemente, a fertilidade. As sinéquias são cicatrizes no interior do útero, no endométrio, provocadas por infeções genitais, curetagem do endométrio durante a interrupção da gravidez, a retirada tardia da placenta e cesarianas. A implantação do embrião no útero é dificultada devido à presença destas cicatrizes (Taylor & Gomel, 2008).

5.1.2.4. Endometriose

A endometriose é uma doença inflamatória crónica em que ocorre um crescimento anormal do endométrio fora do útero. A endometriose pode manifestar-se com apenas alguns focos de endometriose podendo progredir e implantar-se em extensas regiões do corpo (Figura 7) (U.S. Department of Health and Human Services, 2011). A extensão das lesões é classificada de acordo com o sistema de classificação da *American Society for Reproductive Medicine*, que tem em consideração a localização, o tamanho e a extensão das lesões, sendo classificada como: mínima, ligeira, moderada e grave (American Society for Reproductive Medicine, 1997).

Embora o mecanismo pelo qual a endometriose se desenvolve não seja totalmente conhecido, acredita-se que esta ocorra devido ao percurso inverso do fluxo menstrual dentro do organismo. Ou seja, o fluxo menstrual dirige-se para as trompas de Falópio em vez de sair pela vagina. De seguida, as células do endométrio fixam-se nos ovários, nas trompas de Falópio ou na cavidade abdominal. Uma vez fixadas as células, estas evoluem para lesões que respondem às hormonas e periodicamente conduzem a reações inflamatórias, tal como o endométrio uterino durante o ciclo menstrual (Robboy & Bean, 2010; Sourial, Tempest, & Hapangama, 2014).

As possíveis causas para a infertilidade em mulheres com endometriose são as aderências de tecido endometrial, a inflamação intraperitoneal crónica, a alteração da

foliculogénese e dificuldade na motilidade do espermatozoide até ao óvulo (Tanbo & Fedorcsak, 2017).

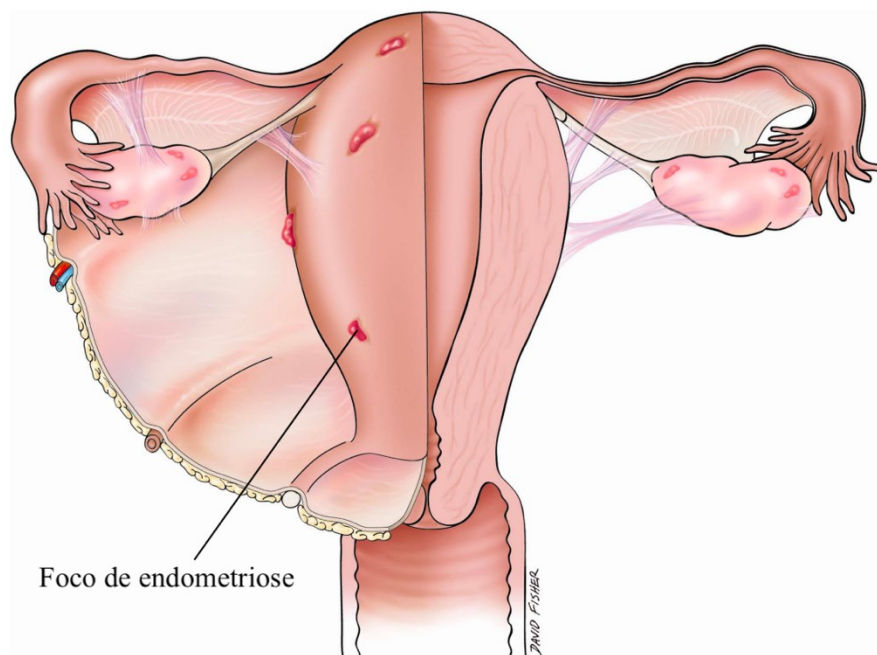


Figura 7. Focos de endometriose no útero e ovários. Adaptado de: (Harris-Glocker & McLaren, 2013)

5.2. Causas de infertilidade masculina

5.2.1. Alterações dos espermatozoides

A Organização Mundial de Saúde publicou em 2010 os padrões para análise de sémen, estes valores resultam dos dados obtidos através de 5 estudos realizados em 8 países em homens férteis. Deste estudo foram definidos os valores mínimos de referência para o sémen de homens férteis, representados na Tabela 4.

Os homens que apresentem um espermograma com parâmetros espermáticos abaixo dos valores normais da OMS são considerados portadores de um fator de infertilidade masculina, no entanto esta não deve ser diagnosticada apenas com base nestes valores e devem ser realizados mais exames (N. Kumar & Singh, 2015).

Tabela 4. Valores mínimos de referência para o sémen de homens férteis. Adaptado de: (Cooper et al., 2010)

Parâmetro	Valor
Volume de sémen (mL)	1,5
Concentração de espermatozoides (10^6 /mL)	15
Número total de espermatozoides (10^6 /ejaculação)	39
Mobilidade progressiva (%)	32
Total de mobilidade (%)	40
Morfologia (% de morfologia normal)	4
Vitalidade (%)	58

As alterações dos espermatozoides podem ser a ausência de espermatozoides (azoospermia), a diminuição do número de espermatozoides (oligozoospermia), a malformação morfológica do espermatozoide (teratozoospermia) (Figura 8) e a diminuição da motilidade espermática (astenozoospermia). Estas alterações podem ocorrer simultaneamente e são descritas como a síndrome OAT (oligoastenoteratozoospermia) (Jungwirth et al., 2012; N. Kumar & Singh, 2015; Olayemi, 2010).

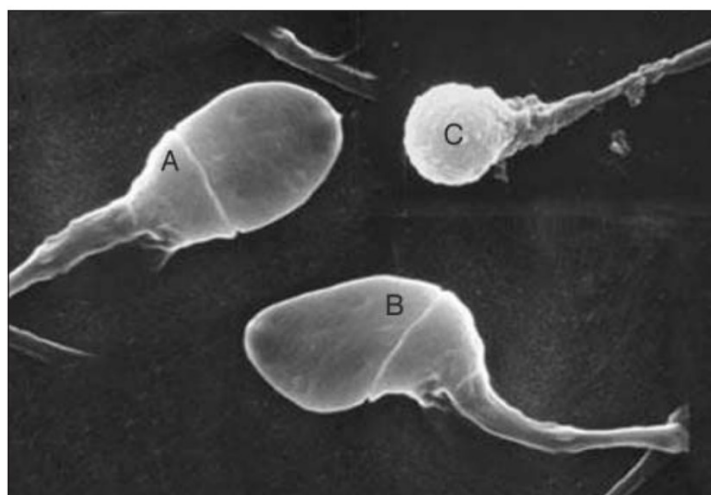


Figura 8. Malformação morfológica dos espermatozoides: (a) morfologia normal; (b) malformação da cabeça do espermatozoide; (c) globozoospermia (a cabeça do espermatozoide não têm acrossoma, fazendo com que este adquira uma forma arredondada) (Hirsh, 2003).

As alterações dos espermatozoides podem dever-se a malformações anatómicas, mutações genéticas do cromossoma Y, anomalias do cariótipo, distúrbios endócrinos, infecções genitais e inexistência ou obstrução dos canais genitais excretórios (Abdel Raheem & Ralph, 2011; Associação para o Planeamento da Família, 2012).

5.2.2. Fatores hormonais

Tal como na infertilidade feminina, uma das causas de infertilidade masculina é o hipogonadismo hipogonadotrófico. O hipogonadismo hipogonadotrófico ocorre devido à deficiência da FSH e da LH. Estas alterações no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal ocorre devido à síndrome de Kallmann, em que existe uma deficiência na libertação da GnRH, a tumores cerebrais, a traumatismos cranianos e radioterapia. Outros fatores hormonais, como distúrbios da glândula tiroide, níveis elevados de prolactina e baixos níveis de testosterona também prejudicam a produção de espermatozoides (Brugh, Matschke, & Lipshultz, 2003; Jungwirth et al., 2012).

O hipogonadismo hipogonadotrófico congénito está associado à puberdade tardia, podendo ser diagnosticado antes da idade adulta. Este diagnóstico pode ainda ser feito só na idade adulta, uma vez que o transtorno da espermatogénese e o hipoandrogenismo podem ser os únicos sintomas (Huhtaniemi & Alevizaki, 2007).

5.2.3. Fatores anatómicos

Nos fatores anatómicos inclui-se a ausência congénita do ducto deferente, a obstrução do ducto deferente, obstrução do epidídimo, obstrução do canal ejaculatório e o varicocelo (Abdel Raheem & Ralph, 2011).

5.2.3.1. Varicocelo

O varicocelo é uma alteração anatómica caracterizada pela dilatação ou tortuosidade das veias do plexo pampiniforme, que é constituído pelas veias presentes na parte posterior dos testículos. Clinicamente, o varicocelo ocorre mais comumente no

lado esquerdo. O varicocelo não só provoca a perda de massa testicular, como também provoca disfunção testicular. Adicionalmente, em homens com varicocelo é possível verificar a hipoespermato gênese (Masson & Brannigan, 2014).

O mecanismo que explica a disfunção testicular é o da hipertermia testicular. Os testículos, uma vez que se encontram fora do corpo humano, apresentam uma temperatura 1 a 2°C abaixo da temperatura corporal. Para além deste fator, a termorregulação também é mantida pelo plexo pampiniforme, que permite a troca de calor. A presença de veias varicosas, características do varicocelo, diminui a termorregulação (Masson & Brannigan, 2014; Pastuszak & Wang, 2015).

6. Tratamento da infertilidade

O tratamento da infertilidade requer o estudo das possíveis causas associadas a esta, a previsão de um prognóstico realista (com e sem tratamento), aconselhamento sobre opções de tratamento (incluindo a não intervenção) e fornecimento de informação (Farquhar et al., 2019).

O NICE (*The National Institute for Health and Care Excellence*) publicou em 2013 o guia “*Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems*” onde apresenta diversos fluxogramas das opções de tratamento a considerar em cada caso de infertilidade.

Durante este capítulo, os fluxogramas serão utilizados para apresentar uma abordagem geral dos possíveis tratamentos para cada causa de infertilidade. Mais pormenorizadamente, só será abordada a estimulação ovárica, uma vez que, é nesta que a farmacogenética tem ação.

Em casos de distúrbios tubários ou uterinos deve seguir-se o Fluxograma E (Figura 9). Este fluxograma apresenta as diversas opções de tratamento para fatores anatómicos, tubários e uterinos, como tal, estes são procedimentos cirúrgicos e não farmacológicos.

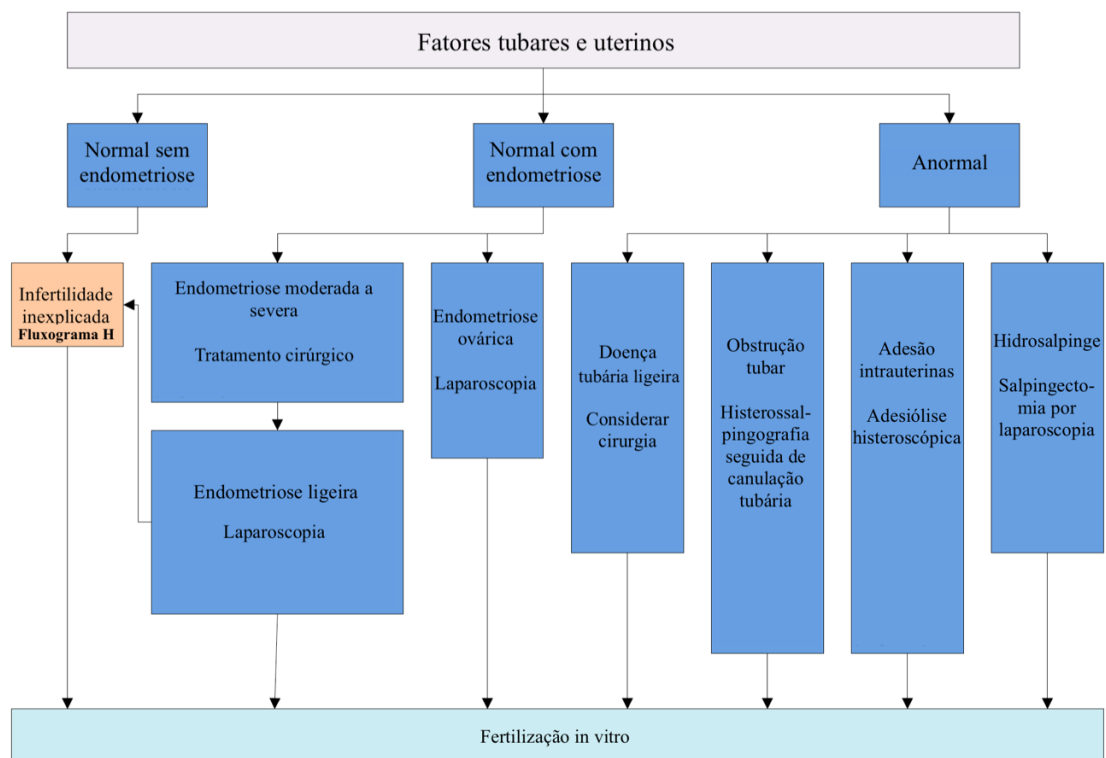


Figura 9. Fluxograma de tratamento E (NICE) - Distúrbios tubários e uterinos. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)

Quando existe uma suspeita de que a causa de infertilidade é devido a distúrbios ovulatórios, incluído Grupo I e Grupo II da classificação da OMS, deve seguir-se o fluxograma F (Figura 10). Neste fluxograma, contrariamente ao fluxograma E, os tratamentos são principalmente farmacológicos, com a administração de GnRH, gonadotrofinas e citrato de clomifeno. Associado ao tratamento farmacológico são recomendadas alterações de estilo de vida.

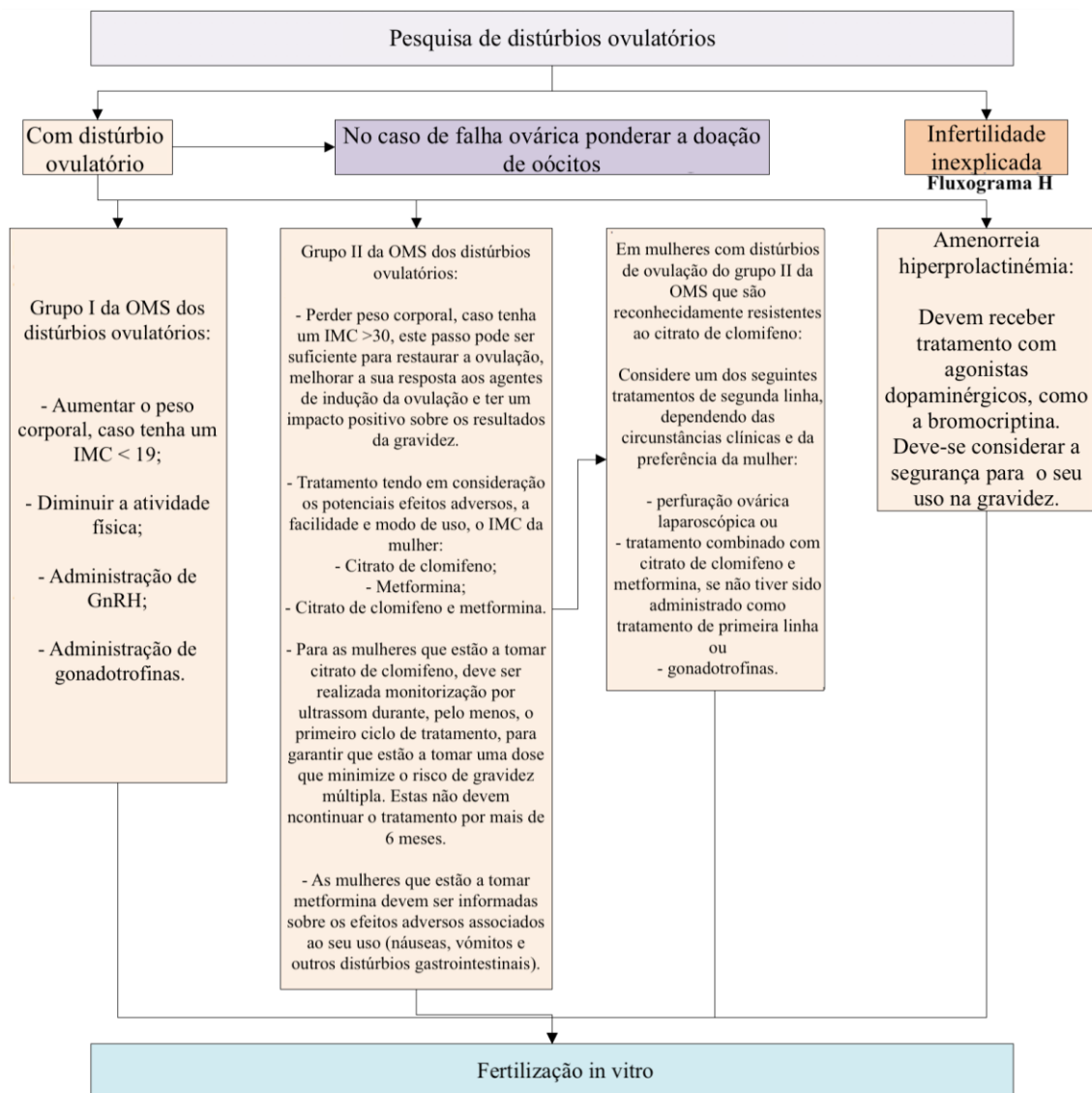


Figura 10. Fluxograma de tratamento F (NICE) - Distúrbios ovulatórios. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)

Caso a suspeita de que a causa de infertilidade é devido a um fator masculino deve seguir-se o fluxograma G (Figura 11). Neste fluxograma, tal como nos

fluxogramas de fatores causadores de infertilidade feminina, os protocolos de tratamento podem passar por procedimentos cirúrgicos e tratamentos farmacológicos com gonadotrofinas.

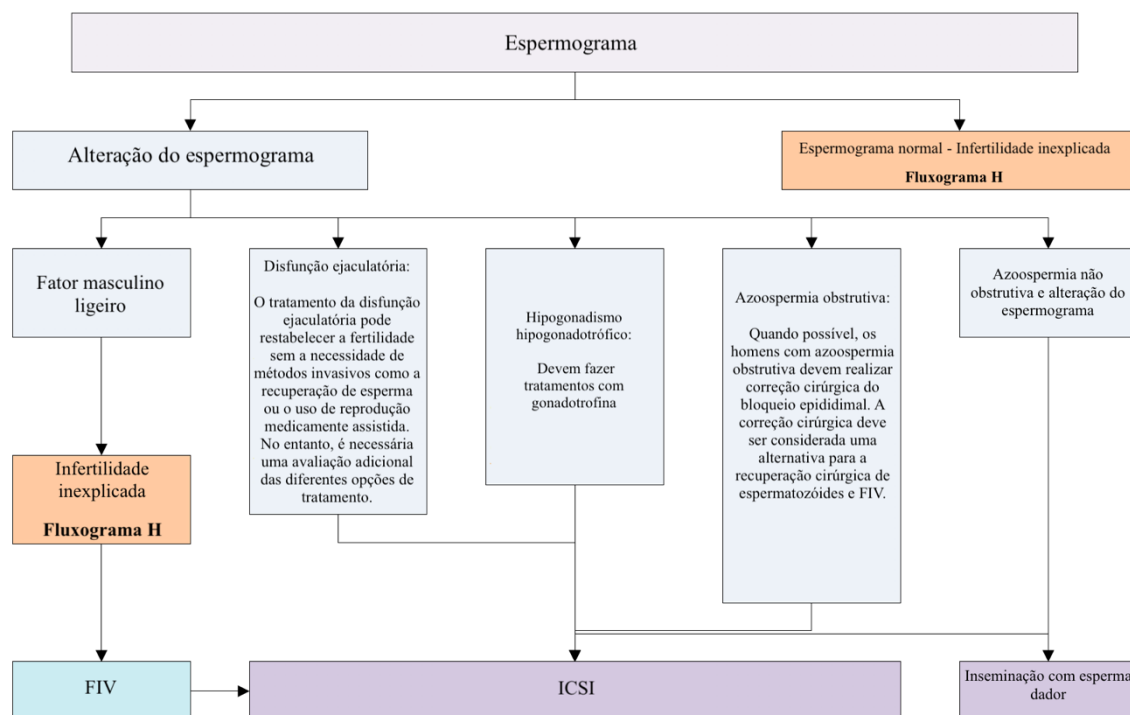


Figura 11. Fluxograma de tratamento G (NICE) - Fator masculino. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)

Nos casos de infertilidade inexplicada deve seguir-se o fluxograma H (Figura 12). Os casos de infertilidade inexplicada são difíceis de resolver, no sentido em que não se sabe qual é o alvo do tratamento, acabando por ser um tratamento de “tentativa-erro”, em que muitas vezes se recorre à FIV.

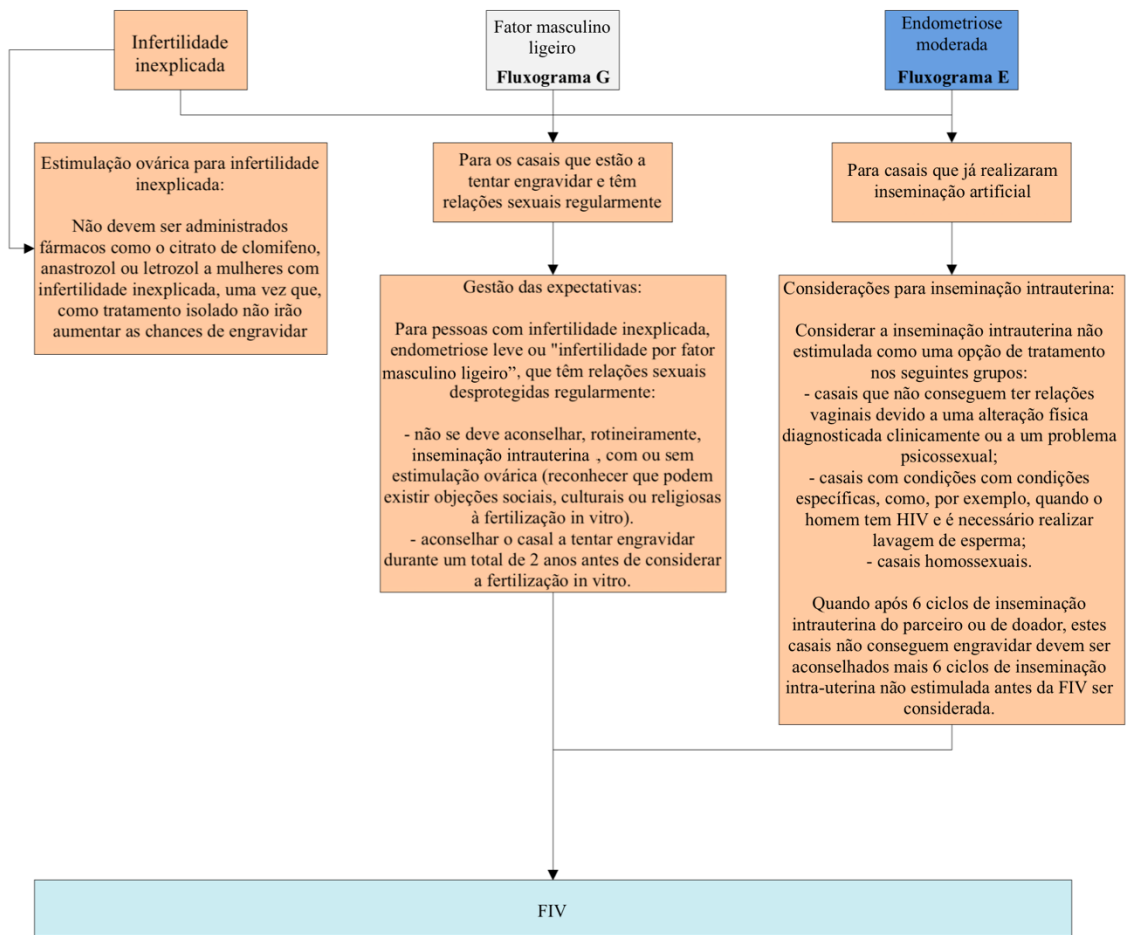


Figura 12. Fluxograma de tratamento H (NICE) - Infertilidade inexplicada. Adaptado de: (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013)

6.1. Estimulação ovárica

A estimulação ovárica é parte integrante de muitos tratamentos de infertilidade. A estimulação ovárica tem sido aplicada em mulheres ovulatórias diagnosticadas com infertilidade com o objetivo de aumentar o número de folículos em desenvolvimento e o número de oócitos para fertilização *in vivo*. A estimulação ovárica é ainda utilizada em mulheres anovulatórias (B. Fauser, 2019).

A estimulação ovárica aumenta as chances de gravidez por ciclo, no entanto, também aumenta as taxas de complicações, principalmente gravidezes múltiplas e síndrome de hiperestimulação ovárica.

A síndrome de hiperestimulação ovárica é caracterizada pela presença de múltiplos quistos dentro dos ovários levando ao aumento do tamanho do ovário. Adicionalmente, desenvolve-se hiperpermeabilidade vascular e o deslocamento de fluidos para o terceiro espaço. Esta síndrome tem como sintomas a dor abdominal,

náuseas, vômitos, ascite, peritonite localizada ou generalizada, hipotensão, dispneia e desequilíbrio eletrolítico (P. Kumar, Sait, Sharma, & Kumar, 2011).

6.1.1. A estimulação ovárica no grupo II da OMS

As diretrizes publicadas pelo NICE indicam que o tratamento de primeira linha para as mulheres do grupo II da OMS deve ser o Citrato de Clomifeno.

No caso do grupo II da OMS o objetivo é estimular o ovário com o intuito de obter apenas um folículo dominante, utilizando-se para isso doses de fármacos, como o citrato de clomifeno, suficientemente potentes para permitir atingir esse objetivo, mas insuficientes para promover um desenvolvimento multifolicular, e se possível evitando gravidezes múltiplas e o Síndrome de Hiperestimulação Ovárica (B. Fauser, 2019).

O citrato de clomifeno é um fármaco modulador do recetor de estrogénio (pode atuar como um agonista ou antagonista do estrogénio). Durante os ciclos menstruais, os níveis de estrogénio baixos promovem o *feedback* negativo no hipotálamo e hipófise e inibem a secreção endógena de gonadotrofina durante a fase folicular precoce. Quando o citrato de clomifeno é administrado durante a fase folicular, este compete com o estrogénio pelo recetor, o que bloqueará o mecanismo de *feedback* negativo. Consequentemente, são libertados níveis aumentados de gonadotrofinas endógenas e o folículo dominante é recrutado entre o sexto e o nono dia do ciclo menstrual. Ou seja, causa um aumento do nível sérico de FSH endógena, estimulando assim o crescimento folicular. Este aumento na FSH é acompanhado por um aumento similar nos níveis séricos de LH (Melo, Ferriani, & Navarro, 2015).

O citrato de clomifeno tem a vantagem da sua administração ser oral, de ter poucos efeitos adversos (rubor, cefaleias, distúrbios visuais e desconforto abdominal) e baixa taxa de gestações múltiplas (2 a 13%) (Brown & Farquhar, 2016).

A dose inicial é de 50 mg/dia durante cinco dias, que deve iniciar entre o segundo e o quinto dia do ciclo menstrual e deve ser administrado durante 5 dias. Se 50 mg/dia não induzirem o crescimento folicular, a dose deve ser aumentada para 100 mg/dia no ciclo subsequente, seguido por 150 mg/dia, que é geralmente considerada a dose máxima. O pico de LH ocorre entre o 5º e o 12º dias após o último dia de administração do citrato de clomifeno (Brown & Farquhar, 2016; Infarmed, 2008).

6.1.2. A estimulação ovárica na FIV

A fertilização *in vitro* é um tratamento de fertilidade pelo qual os oócitos maduros são recolhidos dos ovários e fertilizados por espermatozoides fora do corpo. O embrião resultante que apresente uma maior chance de originar uma gravidez é implantado diretamente no útero (Gardner & Simón, 2017).

O objetivo geral da estimulação ovárica no contexto clínico da FIV é induzir o desenvolvimento de múltiplos folículos dominantes a fim de obter um número significativo de oócitos, de modo a aumentar o sucesso dos procedimentos de PMA, a FIV e a ICSI. Deste modo, a primeira etapa da FIV/ICSI é a administração de gonadotrofinas exógenas para estimular o crescimento dos folículos ováricos (Homburg, 2014).

As gonadotrofinas são medicamentos que contêm na sua constituição a FSH ou a LH, genericamente designadas por gonadotrofinas, por exercerem os seus efeitos primariamente sobre os ovários e testículos (gónadas), promovendo o seu crescimento e estimulando-os a produzirem as suas próprias hormonas. Todas as preparações de gonadotrofinas contêm FSH, seja a hormona folículo estimulante recombinante (FSHr), a hormona folículo estimulante urinária (FSHu) ou preparações urinárias de gonadotrofina menopáusica humana (hMG) altamente purificada contendo FSH e LH (B. Fauser, 2019).

A FSH estimula o desenvolvimento folicular, enquanto a LH está envolvida em produzir e iniciar a fase lútea, momento no qual se forma o corpo lúteo, produtor de progesterona, responsável pelo espessamento do endométrio. As gonadotrofinas são administradas por via injetável e atuam pela estimulação direta dos ovários para produzirem oócitos (Jones & Lopez, 2006b).

Existem muitos regimes diferentes de administração de gonadotrofinas, incluindo diferentes dias de início e diferentes doses. Assim, a dose inicial de FSH deve ser individualizada com base em fatores que predizem o sucesso da estimulação, tais como: idade, IMC, presença de ovários poliquísticos e a reserva ovárica (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), 2013).

Estes fatores são úteis para prever as mulheres que respondem de forma excessiva e as que apresentam uma resposta diminuída às gonadotrofinas. Para as que apresentam resposta excessiva deve ser utilizada uma dose baixa de FSH no primeiro ciclo (< 150 UI). Para as que apresentam resposta normal a dose inicial deve encontrar-

se entre 150 e 250 UI. Para as mulheres com resposta diminuída pode ser administrada uma dose relativamente alta de FSH (>250 UI) (Homburg, 2014).

Devido às altas concentrações de estradiol produzidas pela estimulação ovárica controlada, um mecanismo de *feedback* positivo produzirá um aumento prematuro da LH, causando luteinização prematura dos folículos em desenvolvimento. De forma a evitar este processo, são administrados os agonistas da GnRH que têm como objetivo suprimir o ciclo menstrual natural e regular a hipófise (Farquhar et al., 2019; B. Fauser, 2019; Ng & Trew, 2012).

Quando os folículos atingem o tamanho adequado, que deve ser monitorizado através de ultrassonografia, a maturação final dos oócitos é induzida com a gonadotrofina coriônica humana (hCG). De seguida, os oócitos são recolhidos com uma sonda ultrassonográfica transvaginal (Gardner & Simón, 2017).

Os oócitos e espermatozóides recolhidos são combinados em laboratório por FIV ou ICSI. A ICSI é utilizada quando a concentração espermática e a motilidade são baixas, uma vez que para este procedimento só é necessário um espermatozoide que é injetado no oócito. O oócito fertilizado fica em cultura *in vitro* durante 2 a 6 dias e, de seguida, o embrião é transferido para o útero (Gardner & Simón, 2017).

A Figura 13 é uma representação esquemática do processo de FIV.

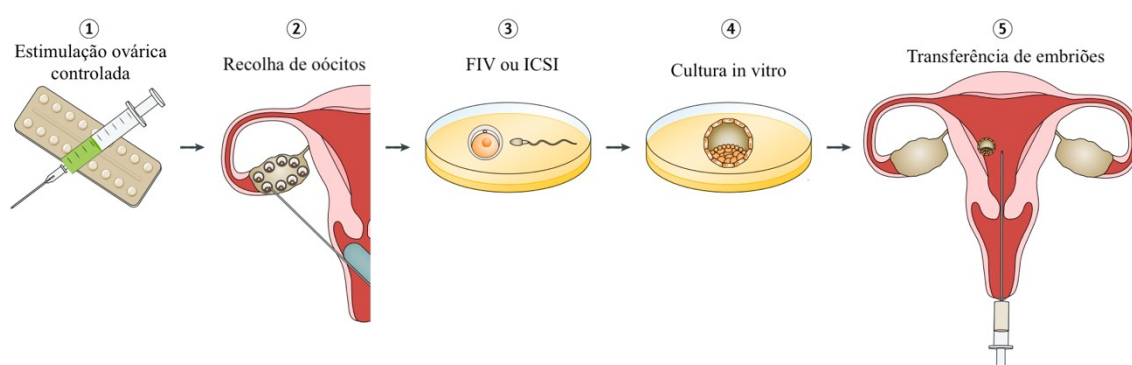


Figura 13. Processo de Fertilização *in vitro*. Adaptado de: (Farquhar et al., 2019)

7. Farmacogenética

A resposta aos medicamentos ocorre de forma heterogênea nos diversos indivíduos, tanto em termos de eficácia como de toxicidade. Esta variabilidade no efeito dos medicamentos pode ter como causa a patogênese da doença, a gravidade da doença, as interações medicamentosas, a idade do indivíduo, o estado nutricional, a função renal, a função hepática e as doenças concomitantes. Atualmente é reconhecido que, apesar da importância destas variáveis clínicas, as diferenças herdadas no metabolismo dos fármacos e os polimorfismos genéticos nos alvos terapêuticos (como os recetores), podem ter uma influência ainda maior sobre a eficácia e toxicidade dos medicamentos (Evans & Relling, 1999).

Estas diferenças observadas nos efeitos dos medicamentos deram origem ao campo da farmacogenética, que estuda principalmente os polimorfismos genéticos em enzimas que metabolizam fármacos e na forma como isso se traduz nas diferenças em termos de eficácia e toxicidade. As alterações hereditárias na capacidade de absorção, distribuição, metabolização e eliminação têm influência na farmacocinética e nos efeitos farmacológicos dos medicamentos (Evans & Relling, 1999).

Assim, a farmacogenética estuda os perfis genéticos individuais e as possíveis respostas a terapêuticas medicamentosas, a fim de otimizar os tratamentos, maximizando a eficácia do fármaco e minimizando a toxicidade do mesmo (Johal & Amlani, 2016).

O sequenciamento do genoma humano, através do Projeto Genoma Humano, revelou que o material genético de dois indivíduos diferentes é idêntico em 99,9%. Apesar da variabilidade entre o material genético de dois indivíduos só diferir em 0,1% é isto que nos torna únicos em termos de aparência física, predisposição para o desenvolvimento de doenças ou resposta a uma dada terapêutica (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001).

Aproximadamente 90% da variabilidade genética no genoma humano é representada por SNPs (*Single-nucleotide polymorphisms*). Os restantes 10% são devidos a inserções, deleções, repetições em tandem e microssatélites (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004).

Os SNPs podem estar localizados nas regiões codificadoras do genoma, em regiões não-codificadoras, em regiões reguladoras ou em regiões entre genes.

Normalmente, a maioria dos SNPs não afeta a síntese da cadeia polipeptídica, sendo que, apenas uma pequena percentagem afeta diretamente a função do gene, modificando a proteína produzida (Kalinderi, Asimakopoulos, Nikolettos, & Manolopoulos, 2018).

A introdução da farmacogenética na prática clínica pode ter as seguintes vantagens (Johal & Amlani, 2016):

- Substituir as prescrições de “tentativa-erro” e as prescrições empíricas de medicamentos por terapêuticas baseadas em informação genética individualizada;
- Diminuir os eventos adversos associados aos medicamentos e consequentemente, diminuir o peso que estes apresentam para o Serviço Nacional de Saúde (SNS).

7.1. A farmacogenética na estimulação ovárica

O estudo da farmacogenética associado ao tratamento da infertilidade encontra-se bastante focado no estudo da resposta interindividual à estimulação ovárica controlada. Tal pode dever-se a vários fatores: esta é um passo crucial nos procedimentos de PMA, a FIV está incluída em todos os fluxogramas de tratamento publicados pelo NICE e pelos preços elevados deste tipo de procedimento.

A primeira etapa de cada ciclo de FIV ou ICSI é a estimulação controlada dos ovários, uma vez que, é necessário o desenvolvimento e maturação dos folículos e oócitos, de forma a aumentar a probabilidade de ocorrer uma gravidez. Idealmente, esta deve permitir, simultaneamente, que se obtenha um número adequado de oócitos e minimizar as reações adversas ao medicamento, que podem levar ao cancelamento do ciclo devido a uma resposta fraca ou demasiado alta (Roque et al., 2019).

Existem vários marcadores que podem ser úteis na previsão da resposta folicular e das taxas de sucesso da PMA, como a idade, a reserva ovárica (volume ovárico e contagem de folículos antrais) e marcadores endócrinos (FSH, LH, estradiol, inibina-B e hormona antimulleriana) (Verissimo & Silvestre, 2016).

Além destes parâmetros, devido à variabilidade interindividual, algumas mulheres apresentam uma resposta fraca à estimulação, enquanto outras apresentam uma resposta elevada. Ambas as situações podem levar ao cancelamento do ciclo de tratamento ou mesmo a complicações, como a Síndrome de Hiperestimulação Ovárica (Roque et al., 2019). Adicionalmente, como resultado de uma resposta excessiva à

estimulação ovárica existe o risco de ocorrer uma gravidez múltipla e todas as complicações a esta associada, como o nascimento de um bebê prematuro e a pré-eclâmpsia (Legro, 2008).

Assim, é importante selecionar o melhor protocolo de estimulação ovárica para cada mulher antes do primeiro tratamento, visando reduzir os eventos adversos associados e os cancelamentos de ciclo de tratamentos (Roque et al., 2019).

A maioria dos estudos sobre a influência dos polimorfismos nos genes no resultado da estimulação ovárica tem sido focada em polimorfismos no gene do Recetor da Hormona Folículo-estimulante (FSHR). No entanto, alguns estudos avaliam o impacto das variações genéticas nas vias bioquímicas envolvidas na produção e ação do estrogénio, foliculogénese, entre outros (S. Altmäe et al., 2011; Greb, Behre, & Simoni, 2005).

Foram, ainda, estudados os polimorfismos que influenciam os resultados da terapêutica com citrato de clomifeno em mulheres com distúrbios ovulatórios incluídas no Grupo II da classificação da OMS (Annelies Overbeek & Lambalk, 2009; Pedersen et al., 2017).

Infelizmente, o estudo da farmacogenética associada ao tratamento da infertilidade ainda não se encontra tão desenvolvido quanto gostaríamos. Desta forma, o que se encontra descrito na literatura é uma exposição dos genes que têm influência na infertilidade.

7.1.1. Recetor da Hormona Folículo-estimulante

O gene do FSHR, Recetor da Hormona Folículo-estimulante, encontra-se localizado no cromossoma 2p21 e consiste em 10 exões e 9 intrões. Os exões 1 a 9 codificam o domínio extracelular do recetor, enquanto, a exão 10 codifica para três domínios: a parte C-terminal do domínio extracelular, o domínio transmembranar e o domínio intracelular (Figura 14) (Simoni, Gromoll, & Nieschlag, 1997).

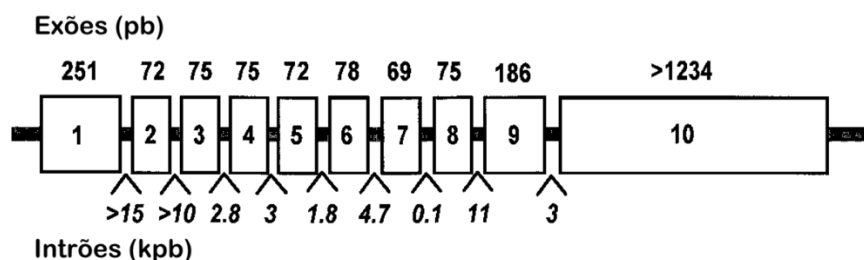


Figura 14. Organização estrutural do gene do recetor de FSH. Adaptado de: (Simoni et al., 1997)

Os SNPs mais comuns e estudados no gene do FSHR são o Thr307Ala (rs6165) e o Asn680Ser (rs6166). Ambos estão localizados no exão 10, sendo que o polimorfismo Thr307Ala encontra-se no domínio extracelular da proteína (na área de ligação à FSH) e o Asn680Ser encontra-se no domínio intracelular. Ambos os polimorfismos afetam a função dos genes modificando as propriedades da proteína produzida e a resposta à FSH (S. Altmäe et al., 2011).

O primeiro polimorfismo encontra-se na posição 919 (919A>G) alterando o codão 307 de treonina (ACT) para alanina (GCT). O segundo polimorfismo encontra-se na posição 2039 (2039A>G), provocando a alteração do codão 680 de asparagina (AAT) para serina (AGT). Sendo que o primeiro polimorfismo se encontra no domínio extracelular e o segundo se encontra no domínio intracelular do recetor (Figura 15) (Greb et al., 2005; Wunsch, Sonntag, & Simoni, 2007).

Existem, assim, quatro possíveis combinações alélicas, ou seja, Thr307-Asn680, Ala307-Ser680, Thr307-Ser680 e Ala307-Asn680 (Greb et al., 2005; Wunsch et al., 2007). As duas variantes alélicas principais na população caucasiana são Thr307-Asn680 e Ala307-Ser680. As outras duas combinações de SNP, Thr307-Ser680 e Ala307-Asn680, são possíveis, mas constituem menos de 5% dos alelos de FSHR (Wunsch et al., 2007).

O genótipo mais resistente à FSH é o Ser/Ser (rs6166). Numa população caucasiana, 18% das mulheres eram homozigóticas para o genótipo Ser/Ser, 34% das mulheres eram homozigóticas para o genótipo Asn/Asn e 49% eram heterozigotas Asn/Ser (Greb et al., 2005).

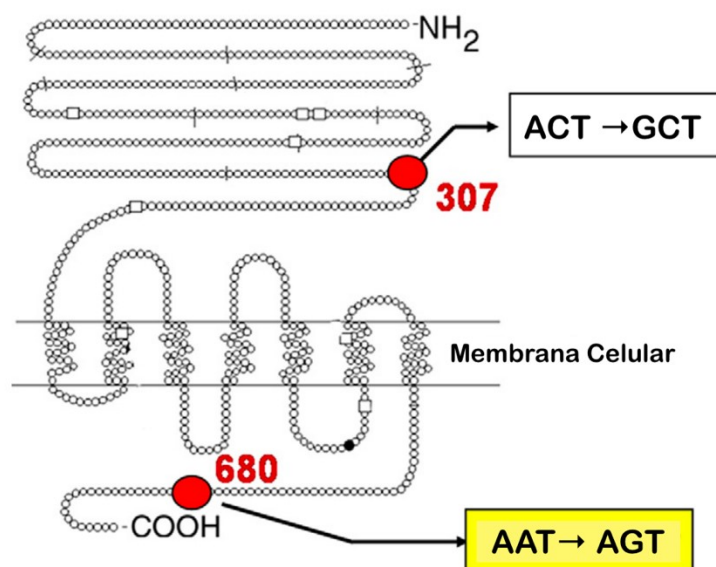


Figura 15. Recetor da Hormona Foliculo-estimulante e os seus polimorfismos. Adaptado de: (Wunsch et al., 2007)

Associado ao genótipo Ser/Ser do polimorfismo do codão 680 do FSHR estão os níveis basais de FSH mais elevados, que têm como consequência uma menor sensibilidade à ação da FSH e, portanto, requer um estímulo mais forte para atingir a mesma resposta biológica.

Desta forma, neste genótipo são necessárias concentrações mais elevadas de FSH para superar esta resistência do FSHR. Na variante alélica Ser/Ser tem de ser administrada uma dose significativamente maior de FSH aquando da estimulação dos ovários para a FIV, a fim de alcançar concentrações semelhantes de estradiol no dia da administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG).

Estas descobertas são confirmadas através de vários estudos realizados em diversas populações (Alviggi, Conforti, Esteves, Vallone, & Placido, 2018; de Castro et al., 2004; Jun et al., 2006; Livshyts & Podlesnaja, 2009; Loutradis et al., 2006; Mayorga, Gassner, Nieschlag, Simoni, & Medicine, 2000; Sudo et al., 2002; Yao, Ma, Tang, & Hu, 2011).

Numa meta-análise que incluiu 16 estudos de coorte, revelou-se que ao contrário dos indivíduos da Ásia e da Europa, os indivíduos portadores do genótipo Ser/Ser da Índia tendem a necessitar de uma menor dose de FSH na estimulação ovárica. Estes resultados mostraram que a resposta ovárica à FSH exógena pode diferir entre etnias. Ainda nesta meta-análise é referido que o número de oócitos recolhidos para a FIV no

genótipo Ser/Ser é menor do que nos outros genótipos (Tang, Yan, Wang, Zhang, & Shi, 2015).

O estudo realizado por Sheikhha *et al.* (2011), mostrou que no grupo com a variante alélica Ser/Ser não se encontram mulheres com uma resposta considerada normal à estimulação ovárica, sendo que 46,7% das mulheres respondiam de forma fraca e 53,3% responderam de forma excessiva.

Um estudo conduzido em Portugal, concluiu que 50% das mulheres com a variante Ser/Ser apresentam uma resposta normal quando submetidas à estimulação ovárica e que 32,4% respondiam de forma fraca à estimulação ovárica. Neste estudo foi ainda observado que a probabilidade de desenvolver uma resposta elevada é menor na variante Ser/Ser e a probabilidade de desenvolver uma má resposta é baixa nas variantes Asn/Asn e Asn/Ser (Santos, 2013).

Em 2013, Mohiyiddeen *et al.*, realizou um estudo em 421 mulheres submetidas ao seu primeiro ciclo de estimulação ovárica, para posteriormente realizarem FIV. Contrariamente aos estudos já referidos, neste o número de oócitos recolhidos e a dose total de gonadotrofina administrada foi comparável entre os diferentes genótipos de FSHR. Concluindo que a variante alélica do FSHR (Asn680Ser) não demonstrou ser preditiva de resposta ovárica. Isto indica que há uma falta de consistência entre os vários estudos publicados sobre esta variante alélica e a sua relação com a estimulação ovárica. A falta de consistência ocorre devido a vários fatores, incluindo diferenças na etnia das populações do estudo, nos protocolos de estimulação ovárica ou no desenho do estudo (Mohiyiddeen *et al.*, 2013).

Apesar de Mohiyiddee *et al.* (2013), considerar que não existem evidências para utilizar a genotipagem do gene do recetor da FSH antes do início da estimulação ovárica refere que devem ser realizados estudos em populações maiores.

Relativamente às mulheres com distúrbios ovulatórios incluídas no grupo II da classificação da OMS, foram realizados estudos relativamente ao tratamento com Citrato de Clomifeno e a sua relação com os polimorfismos no FSHR.

Um estudo realizado por Laven *et al.* (2003), não apresentou qualquer diferença na incidência dos polimorfismos na posição 307 ou 680 em mulheres anovulatórias (Grupo II dos distúrbios ovulatórios da OMS) que conseguiram ou não ovular após tratamento com Citrato de Clomifeno (Laven *et al.*, 2003).

Outro estudo conduzido por Overbeek *et al.* (2009), observou resultados contraditórios em mulheres com SOP. A probabilidade de existir resistência ao

tratamento com Citrato de Clomifeno foi superior em mulheres com SOP portadoras do genótipo Ser/Ser (28%), em comparação com os genótipos Asn/Ser (14%) e Asn/Asn (15%). Isto indica que, no caso do genótipo Ser/Ser, o aumento da FSH induzida pelo citrato de clomifeno frequentemente não consegue ultrapassar o limiar necessário para a maturação do folículo (A Overbeek et al., 2009).

7.1.2. Subunidade beta da Hormona Luteinizante

A hormona luteinizante (LH) atua com a FSH e juntas são fundamentais no desenvolvimento folicular, na maturação, na ovulação e na luteinização dos folículos (Hillier, Whitelaw, & Smyth, 1994).

A LH é uma glicoproteína que apresenta duas subunidades, α e β . A LH e a FSH partilham a subunidade α , enquanto que a subunidade β é específica de cada hormona e contém o domínio de ligação ao recetor. O gene que codifica a subunidade β da LH (LHB) encontra-se no cromossoma 11p13 e tem 3 exões. Associados a este gene existem 2 polimorfismos na sequência de codificação que diminuem a atividade da LH: Trp8Arg e Ile15Thr (Alviggi et al., 2009, 2013).

As mulheres que apresentam a variante 8Arg-15Thr têm mais frequentemente respostas fracas às gonadotrofinas, necessitando de doses mais elevadas de gonadotrofinas exógenas. Adicionalmente, o estudo de Alviggi *et al.*, demonstra que o número oócitos recolhidos para a FIV são significativamente menores no grupo de mulheres com o polimorfismo (Alviggi et al., 2009).

O polimorfismo deste gene afeta a ação da LH e o seu tempo de semi-vida, diminuindo a capacidade para sustentar o crescimento de múltiplos folículos. Assim, as mulheres portadoras desta variante alélica beneficiam da administração de LH durante a estimulação ovária, em substituição do aumento da dose de FSH (Placido et al., 2005).

7.1.3. Recetor da Hormona Luteinizante / Gonadotrofina coriónica humana

A LH e a gonadotrofina coriónica humana (hCG), devido às suas estruturas químicas semelhantes, partilham a ligação ao recetor LHCGR que se encontra na

superfície celular. O gene que codifica para este recetor encontra-se no cromossoma 2p21 e tem 11 exões (Papamentzelopoulou et al., 2012).

Um dos polimorfismos presentes neste gene é uma inserção de 6 pares de bases (CTCCAG) no exão 1 (rs4539842; insLQ) que resulta na inserção (ins) de dois aminoácidos (Leu-Gln/LQ). Estruturalmente, o insLQ afeta o LHR alterando o dobramento tridimensional da proteína e a sua inserção na membrana plasmática (Brien et al., 2013).

O 5259G>C (rs4073366) é outro polimorfismo que ocorre neste gene, a 142 pb do insLQ (Brien et al., 2013).

No estudo de Brie *et al.* (2013), observou-se que tanto o insLQ quanto o 5259G>C estavam em desequilíbrio de ligação e que nenhuma das mulheres era homozigota para ambos os alelos (insLQ/insLQ; C/C). A variante insLQ não foi associada a nenhuma alteração na resposta à estimulação ovárica. A variante C do SNP (rs4073366) foi associada a um aumento do risco de desenvolver síndrome de hiperestimulação ovárica após o tratamento de estimulação ovárica. Os casos de síndrome de hiperestimulação ovárica tiveram um maior número de folículos e oócitos recolhidos e um nível de estradiol mais elevado no dia de administração da hCG.

7.1.4. CYP19

Nas enzimas do citocromo P450 está incluída a aromatase, que atua na transformação irreversível dos androgénios em estrogénios (Simpson et al., 1994). A deficiência desta enzima ou a sua inibição provoca o desenvolvimento da Síndrome dos Ovários Poliquísticos (Xita et al., 2010).

A aromatase humana P450 é codificada pelo gene CYP19 que se encontra localizado no cromossomo 15q21. O polimorfismo mais estudado deste gene é uma repetição em tandem de tetranucleotídeo (TTTA)_n no intrão 4. A análise genotípica do polimorfismo CYP19 (TTTA)_n revelou um polimorfismo com 7 a 12 repetições (Lazaros et al., 2012, 2013).

Lazaros *et al.*, analisou a associação entre esta variação genética e as alterações do perfil hormonal e o resultado da estimulação ovárica controlada.

A presença do alelo CYP19 (TTTA)₇ foi associada a níveis mais baixo de estradiol no terceiro dia do ciclo menstrual. Nas mulheres homozigotas esta alteração

foi acompanhada por um menor número de folículos e oócitos, em comparação com as mulheres heterozigotas e as não portadoras deste alelo (Lazaros et al., 2012, 2013). Estes resultados estão de acordo com outro estudo, no qual as mulheres com o alelo CYP19 (TTTA)₇ apresentaram ovários mais pequenos, um menor número de folículos, assim como com diminuição da sensibilidade à FSH (Signe Altmäe et al., 2009).

A alteração da atividade da aromatase devido a este polimorfismo, altera a relação entre estrogénios e androgénios que, consequentemente, modificam a expressão do recetor da FSH, sendo também alterada a quantidade de folículos que atingem a maturação (Lazaros et al., 2012, 2013).

Assim, este alelo é também associado ao resultado da estimulação ovárica controlada. As mulheres portadoras do alelo CYP19 (TTTA)₇ apresentam uma repostas mais fraca à estimulação ovárica, resultando num menor número de folículos recolhidos. Deste modo, necessitam de quantidades aumentadas de gonadotrofinas exógenas para alcançar resultados semelhantes às não portadoras deste alelo (Signe Altmäe et al., 2009; Lazaros et al., 2012, 2013).

7.1.5. Proteína de Transporte das Hormonas Sexuais

A função ovariana é influenciada pela proteína de transporte das hormonas sexuais que é a principal proteína transportadora das hormonas sexuais, progesterona e estrogénio, para os tecidos-alvo. O gene que codifica esta proteína encontra-se no cromossoma 17p13 (Geoffrey & Bocchinfuso, 1995).

Em relação a este gene, foi descrito um polimorfismo de repetição de pentanucleotídeo (TAAAA)_n com 6 a 11 repetições. Assim, o genótipo foi dividido em alelos curtos com menos de 8 repetições TAAAA e alelos longos com mais de 8 repetições TAAAA (Hatzi et al., 2011).

Estudos demonstram que mulheres com genótipos de alelos curtos têm folículos mais pequenos, em comparação com as mulheres com genótipo de alelos longos que têm folículos maiores e tem uma maior produção de oócitos. Assim, este polimorfismo pode influenciar o tamanho do folículo e o número de oócitos recolhidos durante a estimulação ovárica para a realização de FIV (Hatzi et al., 2011).

7.1.6. Recetor de Estrogénio

Os recetores de estrogénios, ER α e o ER β , são recetores nucleares ativado pelos estrogénios, sendo que, apresentam 95% de semelhança relativamente ao domínio de ligação ao ADN (Ácido Desoxirribonucleico) e 60% de semelhança no domínio de ligação ao ligando. O recetor ER α é codificado pelo gene ESR1, que se encontra no cromossoma 6q25, e o recetor ER β é codificado pelo gene ESR2, que se encontra no cromossoma 14q22. Estes genes estão envolvidos na variabilidade de resposta à FSH exógena, uma vez que o estrogénio está envolvido no crescimento, maturação e liberação do oócito do folículo (Altmae et al., 2007; Mattos et al., 2014).

A associação deste recetor com a resposta ao tratamento de estimulação ovárica, foi estudada em relação aos SNPs T397C (rs2234693) (definido pelo sítio de clivagem da enzima de restrição *PvuII*) e A351G (rs9340799) (definido pelo sítio de clivagem da enzima de restrição *XbaI*) no gene ESR1 e dois outros SNPs G1082A (rs4986938) (definido pelo local de clivagem da enzima de restrição *AluI*) e A + 1730G (rs1256049) (definido pelo sítio de clivagem da enzima de restrição *RsaI*), identificados no gene ESR2 (Mattos et al., 2014).

Em 2007, Altmae *et al.*, concluíram que os resultados da FIV eram melhores no genótipo CC (rs2234693) em relação ao número de folículos maduros, número oócitos obtidos e menores doses de FSH necessárias para obter um embrião de boa qualidade. As mulheres portadoras do genótipo ESR1 CC (rs2234693) desenvolveram 5,3 vezes mais folículos durante a estimulação ovárica do que as mulheres com o genótipo ESR1 TT (rs2234693). Relativamente ao genótipo GG (rs9340799), as mulheres com este genótipo apresentaram níveis mais altos de estradiol no dia de administração de hCG em comparação com o genótipo AA (Altmae et al., 2007).

Ayvaz *et al.* (2009), confirma que o genótipo CC (rs2234693) apresenta melhores resultados do procedimento da FIV, incluindo um maior número de oócitos maduros, uma maior taxa de gravidez e uma maior taxa de qualidade embrionária (Ayvaz, Ekmekçi, Baltacı, Önen, & Ünsal, 2009).

Mais recentemente, em 2014, demonstrou-se que as mulheres que tinham o polimorfismo TT (rs2234693) necessitaram de uma maior dose de rFSH (1000 UI) e mais dias de administração (10 dias), em comparação com o polimorfismo CC (rs2234693) que necessitou de 900 UI de rFSH durante 9 dias. No polimorfismo AA (rs9340799) são obtidos mais folículos maduros, mais oócitos e embriões de boa

qualidade, comparativamente ao genótipo GG (rs9340799), que necessitou de uma maior dose de rFSH. Em relação ao *RsaI*, houve associação significativa entre os genótipos e o total de dias em que foi necessário administrar medicação (rFSH). O genótipo GG (rs1256049) necessitou de mais dias de administração de rFSH assim como uma maior dose. Por fim, em relação ao *AluI*, o genótipo GG (rs4986938) apresentou um aumento da frequência da Síndrome de hiperestimulação ovárica quando comparado aos genótipos GA e AA (Mattos et al., 2014).

7.1.7. Recetor da Hormona Antimulleriana

A hormona Antimulleriana (AMH) é um dos marcadores de reserva ovárica utilizado em disfunções ováricas e em mulheres submetidas a procedimentos de reprodução medicamente assistida. Os níveis séricos de AMH estão associados ao número de folículos antrais e ao tamanho dos folículos em crescimento, refletindo a respetiva função reprodutiva da mulher. Adicionalmente, a resposta ovárica à estimulação com FSH está relacionada com os níveis séricos de AMH, auxiliando na definição do protocolo de tratamento para alcançar um número suficiente de oócitos maduros para a FIV ou ICSI (Nardo et al., 2009; Scheffer et al., 2018).

A AMH exerce seu efeito através do recetor da hormona Antimulleriana tipo II (AMHRII). O gene que codifica este recetor está localizado no cromossoma 12q13 e é composto por 11 exões. Um amplo espectro de sítios polimórficos foi identificado no gene AMHRII e o impacto de uma proporção deles na fertilidade feminina e na reprodução medicamente assistida já foi estudado (Lazaros et al., 2016).

Lazaros *et al.* (2016), estudaram os polimorfismos 1749C>T (rs2071558) e 482A>G (rs2002555). As mulheres com o polimorfismo 1749C>T tiveram um maior número de folículos totais (16,45) em comparação com as mulheres com o polimorfismo 1749C>C (13,45). Adicionalmente, o genótipo 1749C>T foi caracterizado por maior número de folículos pequenos e menor número de folículos grandes em comparação com o genótipo 1749C>C.

Relativamente ao polimorfismo 482A>G, as mulheres que têm presente este polimorfismo apresentaram um maior número de folículos totais (16,5) em comparação às mulheres com o polimorfismo 482A>A (13,67), bem como maior número de folículos pequenos. As mulheres com o genótipo 482A>G também apresentaram níveis

mais elevados de FSH (7,58 mUI/mL), após a sua administração, em comparação com mulheres com o genótipo 482A>A (6,36 mUI/mL) (Lazaros et al., 2016).

Assim, as mulheres com os genótipos 1749C/C e 482A/A são mais resistentes à ação da FSH e, portanto, necessitam de um aumento da quantidade de gonadotrofina administrada durante a estimulação ovárica, de modo a atingir o número de folículos observados em mulheres com genótipos 1749C/T e 482A/G, e diminuir a proporção de folículos pequenos (Lazaros et al., 2016).

7.1.8. CYP2D6

Um fator importante na metabolização dos fármacos é a classe de enzimas conhecidas como monoxigenases ou citocromo P450. Estas enzimas aumentam a polaridade do fármaco por oxidação ou hidroxilação. As variações alélicas que afeta a atividade do citocromo P450 afetam a atividade farmacológica dos fármacos (Ji et al., 2016).

O CYP2D6 está envolvido no metabolismo do Citrato de Clomifeno e o seu polimorfismo afeta a produção dos metabolitos ativos (Ji et al., 2016).

Ji *et al.* (2016), foram os primeiros a investigar a relação entre os genótipos do CYP2D6 e a concentração dos metabolitos do Citrato de Clomifeno, bem como a resposta clínica ao fármaco em mulheres com disfunção ovulatória.

No entanto, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações dos metabolitos entre os pacientes com fenótipo metabolizador extenso e com fenótipo metabolizador intermédio. Na população estudada não se encontravam metabolizadores fracos (Ji et al., 2016).

Assim, os resultados deste estudo não fornecem evidências para a contribuição do polimorfismo CYP2D6 para a resposta ao Citrato de Clomifeno (Ji et al., 2016).

7.2. A farmacogenética no tratamento da infertilidade masculina

A espermatogénese é regulada pelas gonadotrofinas hipofisárias LH e FSH, que atuam nos testículos através da interação com seus recetores específicos. Em particular,

a FSH é essencial para a indução e manutenção de espermatogénese qualitativa e quantitativamente normal (Busch, Kliesch, Tuttelmann, & Gromoll, 2015).

O gene FSHB (que codifica a subunidade β da FSH) apresenta o polimorfismo FSHB -211 G>T (rs10835638) (Busch et al., 2015; Ferlin et al., 2011).

Após o tratamento com FSH exógena observou-se que houve um aumento significativo na contagem total de espermatozóides e níveis de inibina B nos três grupos (GG, GT e TT). No entanto, apenas os homens heterozigotos GT e homozigotos TT mostraram um aumento significativo na concentração de espermatozóides e no número de espermatozóides móveis totais. O aumento desses parâmetros foi mais evidente para os homozigotos TT, que também demonstraram uma melhoria significativa na motilidade espermática. Além disso, o número de indivíduos que se tornaram normozoospermicos (contagem normal de espermatozoides) após o tratamento foi significativamente maior para homozigotos TT (66,7%) do que para heterozigotos GT (25%) e homozigotos GG (10,5%) (Ferlin et al., 2011).

Concluindo, a resposta à terapia com FSH foi significativamente maior nos homozigotos TT do que nos portadores do alelo G (Busch et al., 2015; Ferlin et al., 2011).

8. Conclusão

A infertilidade é uma doença complexa e com muita variabilidade interpessoal, visto que existem vários fatores e mecanismos causadores da mesma. Adicionalmente, um indivíduo pode não ter um fator causador de infertilidade, mas sim múltiplos fatores em conjunto. Esta é uma doença vivida a dois o que faz com que os fatores causadores de infertilidade possam duplicar, quando estes se encontram em ambos os membros do casal, ou até a causa de infertilidade ser desconhecida e não se conseguir atribuir nem ao homem nem à mulher.

Uma vez que esta doença é partilhada pelo casal, afeta significativamente a sua relação, podendo até originar outras doenças como a depressão. A infertilidade tem um grande impacto a nível psicológico, com diminuição da autoestima e sentimentos de culpa, podendo, inclusive, levar à separação do casal, dada a carga emocional a ela associada.

A nível da comunidade este problema de saúde reprodutiva ainda é visto como uma futilidade e é considerado que existem doenças mais graves, às quais deve ser dada prioridade relativamente à investigação de novos tratamentos, elaboração de legislação e comparticipação de tratamentos e medicamentos pelo Sistema Nacional de Saúde.

A infertilidade também trás problemas económico-financeiros para o casal, dado que, quando se opta por realizar procedimentos de PMA, estes são tratamentos caros e muitas vezes com vários ciclos de tratamento.

Dependendo do caso clínico, existem diversas opções de tratamento. Em casos de fatores tubários e uterinos o tratamento passa por procedimentos cirúrgicos e laparoscopia. Nos distúrbios ovulatórios o tratamento pretende restabelecer a função ovárica, sendo as principais terapêuticas a administração de gonadotrofinas, citrato de clomifeno e alterações do estilo de vida. Relativamente, ao sexo masculino, os tratamentos também se focam nos procedimentos cirúrgicos e na administração de gonadotrofinas. Em todas os fatores causadores de infertilidade, podem ser considerados os procedimentos de PMA, como a FIV e a ICSI.

A estimulação ovárica controlada é um passo crucial que precede a FIV e a ICSI. Existem vários marcadores que podem ser úteis na previsão da resposta folicular à estimulação ovárica e das taxas de sucesso da PMA, como a idade, a reserva ovárica (volume ovárico e contagem de folículos antrais) e os marcadores endócrinos (FSH,

LH, estradiol, inibina-B e hormona antimulleriana). No entanto, associada a estes marcadores também se encontra a variabilidade genética interindividual.

Assim, com base na variabilidade genética interindividual, começou a estudar-se a farmacogenética associada ao tratamento da infertilidade. A farmacogenética visa prever a resposta de cada indivíduo à terapêutica farmacológica e com isso adaptar os protocolos de tratamento de forma a obter a resposta terapêutica desejada com o menor número de efeitos adversos.

O estudo da farmacogenética aplicada ao tratamento da infertilidade humana é inovador e ainda não se encontra tão desenvolvido quanto o desejado. Desta forma, o que se encontra descrito na literatura é uma exposição dos genes que têm influência no tratamento da infertilidade, ou seja, é o estudo da variabilidade individual e da resposta desta variabilidade aplicada ao tratamento da infertilidade.

O principal polimorfismo estudado relativamente à resposta à estimulação ovárica é o Asn680Ser (rs6166) e encontra-se no gene do Recetor da Hormona Folículo-estimulante (FSHR). Nas mulheres com o genótipo Ser/Ser é necessário administrar uma dose significativamente maior de FSH aquando da estimulação dos ovários para a FIV, a fim de alcançar concentrações semelhantes de estradiol.

No entanto, alguns estudos avaliam o impacto das variações genéticas nas vias bioquímicas envolvidas na produção e ação do estrogénio e das hormonas essenciais no ciclo menstrual. Nestes incluem-se polimorfismos na subunidade beta da LH, no recetor da LH, no CYP19 que atua na metabolização de estrogénios, no recetor de estrogénio, na proteína de transporte das hormonas sexuais e no recetor da hormona antimulleriana.

Foram, ainda, analisados os polimorfismos que influenciam a resposta à terapêutica com citrato de clomifeno em mulheres com distúrbios ovulatórios. Estes encontram-se no recetor da FSH e na metabolização pela enzima CYP2D6.

O estudo dos polimorfismos encontra-se mais focado nos polimorfismos presentes no sexo feminino do que nos polimorfismos presentes no sexo masculino.

A farmacogenética é certamente uma área com alto potencial para tornar os protocolos de estimulação ovárica mais eficientes e seguros. No futuro, a genotipagem das mulheres antes do início do tratamento de estimulação ovárica pode ser uma análise importante para adequar a dose de gonadotrofinas à suscetibilidade individual de cada uma.

Como perspetiva futura, é necessário estudar mais marcadores responsáveis pela variabilidade genética que podem influenciar a resposta ao tratamento da infertilidade e,

principalmente, analisar de que forma é que todos interagem. Uma análise da relação dos vários polimorfismos entre si irá ser mais interessante do que a análises dos polimorfismos individualmente e permitiram fazer uma previsão mais correta da resposta à estimulação ovárica.

9. Bibliografia

- Abdel Raheem, A., & Ralph, D. (2011). Male infertility: causes and investigations. *Trends in Urology and Men's Health*, (September/October), 8–11.
- Abrao, M. S., Muzii, L., & Marana, R. (2013). Anatomical causes of female infertility and their management. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 123, 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.09.008>
- Altmae, S., Haller, K., Peters, M., Hovatta, O., Stavreus-evers, A., Karro, H., ... Salumets, A. (2007). Allelic estrogen receptor 1 (ESR1) gene variants predict the outcome of ovarian stimulation in in vitro fertilization. *Molecular Human Reproduction*, 13(8), 521–526. <https://doi.org/10.1093/molehr/gam035>
- Altmäe, S., Haller, K., Peters, M., Saare, M., Hovatta, O., Stavreus-evers, A., ... Salumets, A. (2009). Aromatase gene (CYP19A1) variants, female infertility and ovarian stimulation outcome: a preliminary report. *Reproductive BioMedicine Online*, 18(5), 651–657. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60009-0](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60009-0)
- Altmäe, S., Hovatta, O., Stavreus-Evers, A., & Salumets, A. (2011). Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: Where do we stand today? *Human Reproduction Update*, 17(6), 813–828. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr034>
- Alviggi, C., Clarizia, R., Pettersson, K., Mollo, A., Humaidan, P., Strina, I., ... Placido, G. De. (2009). Suboptimal response to GnRHα long protocol is associated with a common LH polymorphism. *Reproductive BioMedicine Online*, 18(1), 9–14. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(11\)60011-4](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(11)60011-4)
- Alviggi, C., Conforti, A., Esteves, S. C., Vallone, R., & Placido, G. De. (2018). Understanding Ovarian Hypo-Response to Exogenous Gonadotropin in Ovarian Stimulation and Its New Proposed Marker — The Follicle-To-Oocyte (FOI) Index. *Front. Endocrinol*, 9, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00589>
- Alviggi, C., Pettersson, K., Longobardi, S., Andersen, C. Y., Conforti, A., Rosa, P. De, ... Humaidan, P. (2013). A common polymorphic allele of the LH beta-subunit gene is associated with higher exogenous FSH consumption during controlled ovarian stimulation for assisted reproductive technology. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-51>
- American Society for Reproductive Medicine. (1997). Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertility and Sterility*, 67(5), 817–821. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(97\)81391-X](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(97)81391-X)
- American Society for Reproductive Medicine. (2008). *Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss*. *Fertility and Sterility* (Vol. 89). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.03.002>
- American Society for Reproductive Medicine. (2014). Female age-related fertility decline. *Fertility and Sterility*. American Society for Reproductive Medicine. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.032>

- Associação para o Planeamento da Família. (2012). *Conceber - Guia para profissionais e pessoas com problemas de fertilidade*.
- Ayvaz, Ö. Ü., Ekmekçi, A., Baltacı, V., Önen, H. I., & Ünsal, E. (2009). Evaluation of in vitro fertilization parameters and estrogen receptor alpha gene polymorphisms for women with unexplained infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 26, 503–510. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9354-2>
- Azziz, R., Woods, K. S., Reyna, R., Key, T. J., Knochenhauer, E. S., & Yildiz, B. O. (2004). The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 2745–2749. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-032046>
- Berga, S., & Naftolin, F. (2012). Neuroendocrine control of ovulation. *Gynecological Endocrinology*, 28(1), 9–13. <https://doi.org/10.3109/09513590.2012.651929>
- Boivin, J., Bunting, L., Collins, J., & Nygren, K. (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction*, 22(6), 1506–1512. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem046>
- Briceag, I., Costache, A., Purcarea, V. L., Cergan, R., Dumitru, M., Sajin, M., & Ispas, A. T. (2015). Fallopian tubes - literature review of anatomy and etiology in female infertility. *Journal of Medicine and Life*, 8(2), 129–131. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4392087&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Brien, T. J. O., Kalmin, M. M., Harralson, A. F., Clark, A. M., Gindoff, I., Simmens, S. J., ... Gindoff, P. (2013). Association between the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor (LHCGR) rs4073366 polymorphism and ovarian hyperstimulation syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-71>
- Brown, J., & Farquhar, C. (2016). Clomiphene and other antioestrogens for ovulation induction in polycystic ovarian syndrome (Review). *The Cochrane Collaboration*, (12). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002249.pub5>
- Brugh, V. M., Matschke, H. M., & Lipshultz, L. I. (2003). Male factor infertility. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 32(3), 689–707. [https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(03\)00047-1](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(03)00047-1)
- Brunham, R., Gottlieb, S., & Paavonen, J. (2015). Pelvic Inflammatory Disease. *The New England Journal of Medicine*, 372(21), 2039–2048. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1411426>
- Busch, A. S., Kliesch, S., Tuttelmann, F., & Gromoll, J. (2015). FSHB -211G >T stratification for follicle-stimulating hormone treatment of male infertility patients: making the case for a pharmacogenetic approach in genetic functional secondary hypogonadism. *Andrology*, 3, 1050–1053. <https://doi.org/10.1111/andr.12094>

- Carvalho, J. L. S., & Santos, A. (2009). Estudo Afrodite - Caracterização da infertilidade em Portugal, I-Estudo na comunidade. Disponível em <http://static.publico.pt/docs/sociedade/AfroditeInfertilidade.pdf>
- Che, Y., & Cleland, J. (2002). Infertility in Shanghai: prevalence, treatment seeking and impact. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 22(6), 643–648. <https://doi.org/10.1080/0144361021000020457>
- Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida. (2017). Relatório da Atividade Desenvolvida pelos Centros de PMA em 2015. <https://doi.org/www.cnpma.org.pt>
- Cooper, T. G., Noonan, E., von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H. W. G., Behre, H. M., ... Vogelsong, K. M. (2010). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human Reproduction Update*, 16(3), 231–245. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp048>
- de Castro, F., Morón, F. J., Montoro, L., Galán, J. J., Pérez-Hernández, D., Sánchez-Casas Padilla, E., ... Ruiz, A. (2004). Human controlled ovarian hyperstimulation outcome is a polygenic trait. *Pharmacogenetics*, 14(5), 285–293. <https://doi.org/10.1097/01.fpc.0000114727.08559.a4>
- De Geyter, C., Calhaz-Jorge, C., Kupka, M. S., Wyns, C., Mocanu, E., Motrenko, T., ... Goossens, V. (2018). ART in Europe, 2014: Results generated from European registries by ESHRE. *Human Reproduction*, 33(9), 1586–1601. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey242>
- Direcção Geral de Saúde. (2008). Saúde Reprodutiva - Planeamento Familiar.
- Duhan, N., & Sirohiwal, D. (2010). Uterine myomas revisited. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, 152(2), 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2010.05.010>
- ESHRE. (2018). Press Information: ART fact sheet. Disponível em <https://www.eshre.eu/Press-Room/Resources>
- Evans, W. E., & Relling, M. V. (1999). Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. *SCIENCE*, 286(October).
- Faddy, M. J., Gosden, R. G., Gougeon, A., Richardson, S. J., & Nelson, J. F. (1992). Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: Implications for forecasting menopause. *Human Reproduction*, 7(10), 1342–1346. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137570>
- Farquhar, C. M., Bhattacharya, S., Repping, S., Mastenbroek, S., Kamath, M. S., Marjoribanks, J., & Boivin, J. (2019). Female subfertility. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(7). <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0058-8>
- Fausser, B. (2019). Medical Approaches to Ovarian Stimulation for Infertility. In *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology* (8th ed., pp. 743–778).

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47912-7.00030-5>

- Fausser, B. C. J. M. (2004). Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction*, 19(1), 41–47. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh098>
- Fehring, R. J., Schneider, M., & Raviele, K. (2006). Variability in the Phases of the Menstrual Cycle. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 35(3), 376–384. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6909.2006.00051.x>.Keywords
- Ferlin, A., Vinanzi, C., Selice, R., Garolla, A., Frigo, A. C., & Foresta, C. (2011). Toward a pharmacogenetic approach to male infertility: polymorphism of follicle-stimulating hormone beta-subunit promoter. *Fertility and Sterility*, 96(6), 1344–1349. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.09.034>
- Fraser, I. S., Critchley, H. O. D., Broder, M., & Munro, M. G. (2011). The FIGO Recommendations on Terminologies and Definitions for Normal and Abnormal Uterine Bleeding. *Seminars in Reproductive Medicine*, 29(5), 383–390.
- Gardner, D. K., & Simón, C. (2017). *Handbook of In Vitro Fertilization*. CRC press.
- Gearhart, J., & Coutifaris, C. (2011). In Vitro Fertilization, the Nobel Prize, and Human Embryonic Stem Cells. *Stem Cell*, 8(1), 12–15. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.12.015>
- Geoffrey, L. H., & Bocchinfuso, W. P. (1995). Sex Hormone-binding Globulin/Androgen-binding Protein: Steroid-binding and Dimerization Domains. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol*, 53(1), 543–552. <https://doi.org/0960-0760/95>
- Greb, R. R., Behre, H. M., & Simoni, M. (2005). Pharmacogenetics in ovarian stimulation - Current concepts and future options. *Reproductive BioMedicine Online*, 11(5), 589–600. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61167-4](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61167-4)
- Gurunath, S., Pandian, Z., Anderson, R. A., & Bhattacharya, S. (2011). Defining infertility - a systematic review of prevalence studies. *Human Reproduction Update*, 17(5), 575–588. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr015>
- Harris-Glocker, M., & McLaren, J. F. (2013). Role of female pelvic anatomy in infertility. *Clinical Anatomy*, 26(1), 89–96. <https://doi.org/10.1002/ca.22188>
- Hasanpoor-azghdy, S. B., Simbar, M., & Vedadhir, A. (2014). The emotional-psychological consequences of infertility among infertile women seeking treatment: Results of a qualitative study. *Iran Journal of Reproductive Medicine*, 12(2), 131–138.
- Hatzi, E., Bouba, I., Galidi, A., Lazaros, L., Xita, N., Sakaloglou, P., ... Georgiou, I. (2011). Association of serum and follicular fluid SHBG levels and SHBG (TAAAA)n polymorphism with follicle size in women undergoing ovarian stimulation. *Gynecological Endocrinology*, 27(1), 27–32. <https://doi.org/10.3109/09513590.2010.493961>

- Healy, D. L., Trounson, A. O., & Andersen, A. N. (1994). Female infertility: causes and treatment. *The Lancet*, 343(8912), 1539–1544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)92941-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)92941-6)
- Hillier, S. G., Whitelaw, P. F., & Smyth, D. (1994). Follicular oestrogen synthesis: the ‘two-cell , two-gonadotrophin’ model revisited. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 100, 51–54.
- Hirsh, A. (2003). Male subfertility. *The BMJ*, 327, 669–672. <https://doi.org/10.1203/00006450-199909000-00016>
- Homburg, R. (2014). Controlled Ovarian Stimulation for IVF/ICSI. In *Ovulation Induction and Controlled Ovarian Stimulation - A Practical Guide* (pp. 143–158). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-05612-8>
- Huhtaniemi, I., & Alevizaki, M. (2007). Mutations along the hypothalamic-pituitary-gonadal axis affecting male reproduction. *Reproductive BioMedicine Online*, 15(6), 622–632. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60529-9](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60529-9)
- Infarmed. (2008). Dufine ®: Resumo das Características do Medicamento (RCM). Disponível em https://effik.pt/files/20141104235641_D513WV99J15N166BNJ44.pdf
- International Human Genome Sequencing Consortium. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860. Disponível em <https://doi.org/10.1038/35057062>
- International Human Genome Sequencing Consortium. (2004). Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431, 931. Disponível em <https://doi.org/10.1038/nature03001>
- Ji, M., Kim, K., Lee, W., Choe, W., Chun, S., & Min, W. (2016). Genetic Polymorphism of CYP2D6 and Clomiphene Concentrations in Infertile Patients with Ovulatory Dysfunction Treated with Clomiphene Citrate. *Journal of Korean Medical Science*, 31, 310–314.
- Johal, G., & Amlani, A. (2016). Integrating Pharmacogenomics into Clinical Practice.
- Jones, R., & Lopez, K. (2006a). *Human Reproductive Biology*. (K. Sonnack, Ed.) (3rd ed.). Elsevier Inc.
- Jones, R., & Lopez, K. (2006b). The Menstrual Cycle. In *Human Reproductive Biology* (3rd ed., pp. 73–95). Elsevier.
- Jun, J. K., Yoon, J. S., Ku, S., Choi, Y. M., Hwang, K. R., Park, S. Y., ... Moon, S. Y. (2006). Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism and ovarian responses to controlled ovarian hyperstimulation for IVF-ET. *Journal of Human Genetics*, 51, 665–670. <https://doi.org/10.1007/s10038-006-0005-5>
- Jungwirth, A., Giwercman, A., Tournaye, H., Diemer, T., Kopa, Z., Dohle, G., &

- Krausz, C. (2012). European Association of Urology Guidelines on Male Infertility: The 2012 Update. *European Association of Urology*, 62, 324–332. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2012.04.048>
- Kalinderi, K., Asimakopoulos, B., Nikolettos, N., & Manolopoulos, V. G. (2018). Pharmacogenomics in IVF: A New Era in the Concept of Personalized Medicine. *Reproductive Sciences*, 1–13. <https://doi.org/10.1177/1933719118765970>
- Kumar, N., & Singh, A. (2015). Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 8(4), 191. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.170370>
- Kumar, P., Sait, S. F., Sharma, A., & Kumar, M. (2011). Ovarian hyperstimulation syndrome. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 4(2), 70–75. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.86080>
- Larsen, U. (2005). Research on infertility: Which definition should we use? *Fertility and Sterility*, 83(4), 846–852. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.11.033>
- Laven, J. S. E., Mulders, A., Suryandari, D. A., Gromoll, J., Nieschlag, E., Fauser, B. C. J. M., & Simoni, M. (2003). Follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms in women with normogonadotropic anovulatory infertility. *Fertility and Sterility*, 80(4), 986–992. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)01115-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)01115-4)
- Lazaros, L., Fotaki, A., Pamporaki, C., Hatzi, E., Kitsou, C., Zikopoulos, A., ... Theodoridis, G. (2016). The ovarian response to standard gonadotropin stimulation is influenced by AMHRII genotypes. *Gynecological Endocrinology*, 3590(March). <https://doi.org/10.3109/09513590.2016.1149810>
- Lazaros, L., Hatzi, E., Xita, N., Makrydimas, G., Kaponis, A., Takenaka, A., ... Georgiou, I. (2012). Aromatase (CYP19) gene variants influence ovarian response to standard gonadotrophin stimulation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 29, 203–209. <https://doi.org/10.1007/s10815-011-9673-y>
- Lazaros, L., Xita, N., Hatzi, E., Takenaka, A., Kaponis, A., Makrydimas, G., ... Georgiou, I. (2013). CYP19 gene variants affect the assisted reproduction outcome of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 29(5), 478–482. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.774359>
- Legro, R. S. (2008). Individualizing infertility therapy with pharmacogenomics: Vanity or vanguard? *Pharmacogenomics*, 9(9), 1179–1181. <https://doi.org/10.2217/14622416.9.9.1179>
- Livshyts, G., & Podlesnaja, S. (2009). A distribution of two SNPs in exon 10 of the FSHR gene among the women with a diminished ovarian reserve in Ukraine. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 26, 29–34. <https://doi.org/10.1007/s10815-008-9279-1>
- Loutradis, D., Patsoula, E., Minas, V., Koussidis, G. A., Antsaklis, A., Michalas, S., & Makrigiannakis, A. (2006). FSH receptor gene polymorphisms have a role for

- different ovarian response to stimulation in patients entering IVF/ICSI-ET programs. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 23(4). <https://doi.org/10.1007/s10815-005-9015-z>
- Luciano, A. A., Lanzone, A., & Goverde, A. J. (2013). Management of female infertility from hormonal causes. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 123(2), S9–S17. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.09.007>
- Macklon, N. S., & Fauser, B. C. J. M. (1998). Follicle development during the normal menstrual cycle. *Maturitas: The European Menopause Journal*, 30, 181–188.
- Macklon, N. S., Stouffer, R. L., Giudice, L. C., Fauser, B. C. J. M., Sciences, R., & National, O. (2006). The Science behind 25 Years of Ovarian Stimulation for in Vitro Fertilization. *Endocrine Reviews*, 27(2), 170–207. <https://doi.org/10.1210/er.2005-0015>
- Mascarenhas, M., Flaxman, S., Boerma, T., Vanderpoel, S., & Stevens, G. (2012). National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Med*, 9(12), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
- Masson, P., & Brannigan, R. E. (2014). The varicocele. *Urologic Clinics of North America*, 41(1), 129–144. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2013.08.001>
- Mattos, C. S. De, Trevisan, C. M., Peluso, C., Adami, F., Cordts, E. B., Christofolini, D. M., ... Bianco, B. (2014). ESR1 and ESR2 gene polymorphisms are associated with human reproduction outcomes in Brazilian women. *Journal of Ovarian Research*, 7, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13048-014-0114-2>
- Mayorga, M. P., Gassner, C., Nieschlag, E., Simoni, M., & Medicine, R. (2000). Ovarian Response to Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Stimulation Depends on the FSH Receptor Genotype. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(9), 3365–3369.
- Melo, A., Ferriani, R., & Navarro, P. (2015). Treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome: approach to clinical practice. *Clinics*, 70(11), 765–769. [https://doi.org/10.6061/clinics/2015\(11\)09](https://doi.org/10.6061/clinics/2015(11)09)
- Mohiyiddeen, L., Newman, W. G., Cerra, C., Mcburney, H., Mulugeta, B., Roberts, S. A., & Nardo, L. G. (2013). A common Asn680Ser polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is not associated with ovarian response to gonadotropin stimulation in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 99(1), 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.08.037>
- Nardo, L. G., Gelbaya, T. A., Wilkinson, H., Roberts, S. A., Yates, A., Pemberton, P., & Laing, I. (2009). Circulating basal anti-Mullerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 92(5), 1586–1593. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.127>

- National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). (2013). Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*. <https://doi.org/10.3399/bjgp14X676609>
- Ng, C., & Trew, G. (2012). Endocrinological insights into different in vitro fertilization treatment aspects. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 7(4), 419–432. <https://doi.org/10.1586/eem.12.32>
- Olayemi, F. (2010). A review on some causes of male infertility. *African Journal of Biotechnology*, 9(20), 2834–2842. <https://doi.org/10.4314/ajb.v9i20>
- Overbeek, A., Kuijper, E. A. M., Hendriks, M. L., Blankenstein, M. A., Ketel, I. J. G., Twisk, J. W. R., ... Lambalk, C. B. (2009). Clomiphene citrate resistance in relation to follicle-stimulating hormone receptor Ser680Ser-polymorphism in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*, 24(8), 2007–2013. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep114>
- Overbeek, A., & Lambalk, C. B. (2009). Phenotypic and pharmacogenetic aspects of ovulation induction in WHO II anovulatory women. *Gynecological Endocrinology*, 25(4), 222–234. <https://doi.org/10.1080/09513590802571118>
- Padeiro, C. P. S. (2014). *A influência da infertilidade na satisfação com a vida e nos estados emocionais dos casais inférteis*.
- Pałubska, S., Adamiak-Godlewska, A., Winkler, I., Romanek-Piva, K., Rechberger, T., & Gogacz, M. (2017). Hyperprolactinaemia - A problem in patients from the reproductive period to the menopause. *Menopause Review*, 16(1), 1–7. <https://doi.org/10.5114/pm.2017.67364>
- Papamentzelopoulou, M., Mavrogianni, D., Partsinevelos, G. A., Marinopoulos, S., Dinopoulou, V., Theofanakis, C., ... Loutradis, D. (2012). LH receptor gene expression in cumulus cells in women entering an ART program. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 29, 409–416. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9729-7>
- Pastuszak, A. W., & Wang, R. (2015). Varicocele and testicular function. *Asian Journal of Andrology*, 17, 659–667. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.153539>
- Pedersen, A. J. T., Stage, T. B., Glintborg, D., Andersen, M., Marie, M., & Christensen, H. (2017). The Pharmacogenetics of Metformin in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized Trial. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 1–6. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12874>
- Placido, G. De, Alviggi, C., Perino, A., Strina, I., Lisi, F., Fasolino, A., ... Università, I. I. (2005). Recombinant human LH supplementation versus recombinant human FSH (rFSH) step-up protocol during controlled ovarian stimulation in normogonadotrophic women with initial inadequate ovarian response to rFSH . A multicentre , prospective , randomized control. *Human Reproduction*, 20(2), 390–396. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh625>

- Raine-fenning, N. J., Campbell, B. K., Clewes, J. S., Kendall, N. R., & Johnson, I. R. (2004). Defining endometrial growth during the menstrual cycle with three-dimensional ultrasound. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 111(September), 944–949.
- Rantsi, T., Joki-Korpela, P., Hokynar, K., Kalliala, I., Öhman, H., Surcel, H. M., ... Puolakkainen, M. (2018). Serum antibody response to Chlamydia trachomatis TroA and HtrA in women with tubal factor infertility. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 37(8), 1499–1502. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3276-9>
- Robboy, S. J., & Bean, S. M. (2010). Pathogenesis of endometriosis. *Reproductive BioMedicine Online*, 21(1), 4–5. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.03.031>
- Roque, M., Bianco, B., Christofolini, D. M., Cordts, E. B., Vilarino, F. L., Carvalho, W., ... Barbosa, C. P. (2019). Pharmacogenetic algorithm for individualized controlled ovarian stimulation (iCOS) in assisted reproductive technology cycles. *Panminerva Medica*, 61(1), 76–81. <https://doi.org/10.23736/S0031-0808.18.03496-1>
- Rosenfield, R. L., & Ehrmann, D. A. (2016). The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited. *Endocrine Reviews*, 37(5), 467–520. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1104>
- Santos, L. C. dos. (2013). *Influência do polimorfismo no gene do receptor da FSH na forma como as pacientes respondem ao tratamento de estimulação ovárica*.
- Scheffer, J., Scheffer, B., Scheffer, R., Florencio, F., Grynberg, M., & Lozano, D. (2018). Are age and anti-Müllerian hormone good predictors of ovarian reserve and response in women undergoing IVF? *JBRA Assisted Reproduction*, 22(3), 215–220. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180043>
- Schmidt, L. (2006). Psychosocial burden of infertility and assisted reproduction. *The Lancet*.
- Simoni, M., Gromoll, J., & Nieschlag, E. (1997). The Follicle-Stimulating Hormone Receptor: Biochemistry, Molecular Biology, Physiology, and Pathophysiology. *Endocrine Reviews*, 18(6), 739–773.
- Simpson, E. R., Mahendroo, M. S., Means, G. D., Kilgore, M. W., Hinshelwood, M. M., Graham-lorence, S., ... Bulun, S. E. (1994). Aromatase Cytochrome P450, The Enzyme Responsible for Estrogen Biosynthesis. *Endocrine Reviews*, 15(3), 342–355.
- Sourial, S., Tempest, N., & Hapangama, D. K. (2014). Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine*, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3276-9>
- Sourial, S., Tempest, N., & Hapangama, D. K. (2014). Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine*, 1–9.

- Speroff, L., Glass, R. H., & Kase, N. G. (1999). Regulation of the Menstrual Cycle. In *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* (6th ed.).
- Sudo, S., Kudo, M., Wada, S., Sato, O., Hsueh, A. J. W., & Fujimoto, S. (2002). Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene. *Molecular Human Reproduction*, 8(10), 893–899.
- Tanbo, T., & Fedorcsak, P. (2017). Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 96(6), 659–667. <https://doi.org/10.1111/aogs.13082>
- Tang, H., Yan, Y., Wang, T., Zhang, T., & Shi, W. (2015). Effect of follicle-stimulating hormone receptor Asn680Ser polymorphism on the outcomes of controlled ovarian hyperstimulation: an updated meta-analysis of 16 cohort studies. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32, 1801–1810. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0600-5>
- Taylor, E., & Gomel, V. (2008). The uterus and fertility. *Fertility and Sterility*, 89(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.09.069>
- The National Institute for Health and Care Excellence. (2004). Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323079808000138>
- The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, & The Society of Reproductive Surgeons. (2008). Myomas and reproductive function. *Fertility and Sterility*, 90(3), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.09.012>
- U.S. Department of Health and Human Services. (2011). Endometriosis: A Fact Sheet from the Office on Women's Health. Disponível em <http://www.womenshealth.gov/publications/our-publications/fact-sheet/endometriosis.html>
- Verissimo, R., & Silvestre, M. (2016). Marcadores de reserva ovárica e contagem de folículos antrais, 10(4), 308–316.
- Wallace, W., & Kelsey, T. (2010). Human Ovarian Reserve from Conception to the Menopause. *PLoS ONE*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008772>
- Wallach, E. E., & Vlahos, N. F. (2004). Uterine myomas: An overview of development, clinical features, and management. *Obstetrics and Gynecology*, 104(2), 393–406. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000136079.62513.39>
- Weström, L. (1980). Incidence, prevalence, and trends of acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 138(7), 880–892. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(80\)91077-7](https://doi.org/10.1016/0002-9378(80)91077-7)

- Wunsch, A., Sonntag, B., & Simoni, M. (2007). Polymorphism of the FSH receptor and ovarian response to FSH. *Annales d'Endocrinologie*, 68, 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2007.04.006>
- Xita, N., Ph, D., Lazaros, L., Ph, D., Georgiou, I., & Ph, D. (2010). CYP19 gene : a genetic modifier of polycystic ovary syndrome phenotype. *Fertility and Sterility*, 94(1), 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.01.147>
- Yao, Y., Ma, C., Tang, H., & Hu, Y. (2011). Influence of follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) Ser680Asn polymorphism on ovarian function and in-vitro fertilization outcome : A meta-analysis. *Molecular Genetics and Metabolism*, 103(4), 388–393. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.04.005>
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., ... van der Poel, S. (2009). The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary of ART Terminology, 2009. *Human Reproduction*, 24(11), 2683–2687. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep343>
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Dyer, S., Racowsky, C., De Mouzon, J., Sokol, R., ... Van Der Poel, S. (2017). The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Fertility and Sterility*, 108(3), 393–406. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex234>